

**PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI FRAKSI HEKSAN  
DAUN BOTTO-BOTTO (*Chromolaena odorata* (L.) MENGGUNAKAN  
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DAN REAKSI WARNA DENGAN (2,2-  
*difenil- 1- pikrilhidrazil* ( DPPH )**



**SKRIPSI**

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih

Gelar Sarjana Farmasi Jurusan Farmasi

Pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

UIN Alauddin Makassar

Oleh:

**Asmirah Rezky Nur Octaviani**

NIM: 70100114061

**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN**

**UIN ALAUDDIN MAKASSAR**

**2017**

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Asmirah Rezky Nur Octaviani  
NIM : 70100114061  
Tempat/Tanggal Lahir : Banjar masin , 27 april 1997  
Jur/Prodi/Konsentrasi : Farmasi  
Alamat : Lappariaja, Bone  
Judul : Pengujian Aktivitas Antioksidan Dari Fraksi Heksan  
Daun Botto – Botto ( *Chromolaena odorata* ( L.)  
Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Dan Reaksi  
Warna Dengan (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil ( DPPH )

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya sendiri. Jika di kemudian hari terbukti bahwa ia merupakan duplikat, tiruan, plagiat, atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Gowa, 20 Agustus 2018

Penulis,

**Asmirah Rezky Nur Octaviani**

NIM. 70100113061

#### PENGESAHAN SKRIPSI

Skrripsi yang berjudul "Pengujian Aktivitas Antioksidan Dari Fraksi Hensen Daun Botto – Botto (*Chromolaena odorata* (L.) Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Dan Reaksi Warna Dengan (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)" yang disusun oleh Asmirah Rezky Nur Octaviani, NIM : 70100114061, Mahasiswa Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar, diuji dan dipertahankan dalam Ujian Sidang Skripsi yang diselenggarakan pada hari, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana dalam Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Jurusan Farmasi.

Makassar,

#### DEWAN PENGUJI

Ketua : Dr. dr. H. Andi Ardyn Nurdin, M.Sc

Sekretaris : Mukhlisani, S.Si., M.Si., Apt.

Pembimbing I : Haeria, S.Si., M.Si.

Pembimbing II : M. Rusdi, S. Si., M.Si., Apt.

Penguji I : Nurhalati Tuhar, S.Farm., M.Si., Apt.

Penguji II : Nurkhalis A. Gaffur, S.Ag., M.Hum

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI

Diketahui oleh:

Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

UIN Alauddin Makassar,

Dr. dr. H. Andi Ardyn Nurdin, M.Sc

NIP. 19550203 198312 1 001

## KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Alhamdulillah*, segala puji kita panjatkan kepada Allah swt. atas segala nikmat kesehatan, kekuatan serta kesabaran yang diberikan kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan tepat pada waktunya. Rasa syukur yang tiada terhingga kepadaNya atas segala hidayah dan karunia yang penulis dapatkan.

Salam dan shalawat senantiasa penulis kirimkan kepada junjungan utusan Allah, nabi besar Muhammad saw, keluarga, dan para sahabat yang telah memberi kontribusi besar dalam memperjuangkan dan menyebarkan agama Islam di muka bumi ini. Semoga kita menjadi umatnya yang taat.

Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar ‘sarjana’ di bidang pendidikan Sarjana. Besar harapan penulis agar skripsi ini dapat dijadikan sebagai penunjang ilmu pengetahuan kedepannya dan bermanfaat bagi banyak orang. Banyak terima kasih penulis haturkan kepada semua pihak yang telah membantu selama penulis menjalani pendidikan kuliah hingga rampungnya skripsi ini.

Terima kasih yang setulusnya kepada kedua orang tua penulis yaitu **Massakkirang S.Pd** dan **Asniati S.Pd** yang telah melahirkan dan membesarkan saya, dan do’a ibu saya serta kesabaran, kegigihan, serta pengorbanan yang telah diberikan dalam membesarkan dan mendidik penulis sampai sekarang. Kepada Saudara Saya **Asrar Masri Syam Abdaw** yang selalu memberikan dukungan moril dan materil kepada penulis dan telah menjadi inspirasi dalam hidup penulis hingga selalu termotivasi untuk terus belajar hingga ke jenjang yang lebih tinggi serta seluruh keluarga besar yang selalu memberi motivasi, Kalian adalah orang-

orang di balik kesuksesan penulis menyelesaikan pendidikan di jenjang (S1). Kepada semua keluarga besar, teman-teman penulis yaitu Team Botto-botto (Afifah dan Imran), teman peneliti (Nur Afifah Hamid) dan saudaraku GALENICA yang selalu memberi semangat dan dorongan kalian sehingga penulis dapat dengan gigih menyelesaikan skripsi ini.

Terima kasih pula kepada Bapak/ Ibu :

1. Prof. Dr. Musafir Pababbari, M.Si., selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar.
2. Dr. dr. H. Andi Armyn Nurdin, M.Sc., sebagai Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan (FKIK) UIN Alauddin Makassar.
3. Dr. Nur Hidayah, S.Kep., Ns., M.Kes., Wakil Dekan I (bidang akademik), Dr. Andi Susilawaty, S.Si., M.Kes., Wakil Dekan II (bidang keuangan), Dr. Mukhtar Lutfi, M.Pd., Wakil Dekan III (bidang kemahasiswaan) FKIK UIN Alauddin Makassar.
4. Haeria, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Farmasi FKIK UIN Alauddin Makassar dan selaku pembimbing I bagi penulis yang senantiasa dengan sabar memberi arahan dan bimbingannya kepada penulis.
5. Mukhriani, S.Si., M.Si., Apt., selaku Sekretaris Jurusan Farmasi FKIK UIN Alauddin Makassar.
6. M.Rusdi, S.Si., M.Si., Apt., selaku pembimbing II bagi penulis yang senantiasa dengan sabar memberi arahan dan bimbingannya kepada penulis..
7. Nurshalati Tahar, S.Farm.,M.Si.,Apt selaku penguji kompetensi dalam penyusunan skripsi penelitian bagi penulis.
8. Nurkhalis A. Gaffar, S.Ag M.Hum selaku pembimbing agama dalam penyusunan skripsi penelitian bagi penulis.

9. Dosen dan seluruh staf jurusan Farmasi beserta laboran atas bantuan dan kerjasamanya yang diberikan kepada penulis saat melaksanakan penelitian.
10. Keluarga besar Mahasiswa Jurusan Farmasi UIN Alauddin Makassar, rekan-rekan angkatan 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015 dan 2016 atas segala bantuan selama penulis menempuh pendidikan.
11. Semua pihak yang tidak sempat disebutkan namanya satu-persatu, terima kasih atas perhatian dan bantuan yang diberikan pada penulis selama ini.

Akhirnya, penulis mengharapkan agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi ilmu di bidang Farmasi pada umumnya dan semoga Allah swt. selalu melimpahkan rahmat dan hidayah didalamnya. *Aamiin ya Rabbal Aalamin..*

Samata-Gowa, 20 Agustus 2018

Penulis,

**Asmirah Rezky Nur Octviani**

**NIM. 70100114061**

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
**ALAUDDIN**  
M A K A S S A R

## DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI .....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	v
DAFTAR LAMPIRAN .....	vi
ABSTRAK .....	vii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	5
C. Definisi Operasional dan Ruang Lingkup .....	5
D. Kajian Pustaka .....	7
E. Tujuan dan Manfaat Penelitian .....	8
BAB II LANDASAN TEORI.....	10
A. Uraian Tanaman .....	10
B. Uraian Metode Ekstraksi .....	20
C. Uraian Tentang Radikal Bebas.....	25
D. Uraian Tentang Antioksidan .....	27
E. Tinjauan Islam .....	34
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	39
A. Jenis Penelitian.....	39
B. Waktu dan Tempat Penelitian .....	39
C. Pendekatan penelitian .....	39
D. Populasi dan Sampel .....	39
E. Alat dan Bahan .....	39
F. Prosedur Kerja.....	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	44

A. Hasil Penelitian.....	44
B. Pembahasan.....	51
BAB IV PENUTUP .....	58
A. Kesimpulan.....	58
B. Saran .....	58
KEPUSTAKAAN .....	59
LAMPIRAN.....	64





## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kandungan Senyawa Kimia dan Aktivitasnya.....	12
Tabel 2. Aktivitas Ekstrak Botto - Botto (Chromolaena Odorata L.).....	17
Tabel 3. Kegunaan Chromolaena odorata di Asia dan Afrika Selatan.....	18
Tabel 4. Hasil Fraksinasi Sampel Daun Botto-Botto (Cholomolaena Odorata L.).....	46
Tabel 5. Hasil Penggabungan Fraksi .....	47
Tabel 6. Hasil Identifikasi Senyawa .....	49



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Tanaman Botto-botto.....	vii
Gambar 2 Ekstrak Tanaman Botto-botto.....	viii
Gambar 3 Partisi.....	viii
Gambar 4 Hasil Partisi.....	viii
Gambar 5 Proses Fraksinasi.....	x
Gambar 6. Hasil Fraksi.....	xi
Gambar 7 Hasil Penggabungan Fraksi.....	xii
Gambar 8 Hasil Penggabungan Fraksi I pada lempeng KLT.....	xiii
Gambar 9. Hasil Penggabungan Fraksi II pada lempeng KLT.....	xiii
Gambar 10. Hasil Penampakan Fraksi I Pada Lampu UV 254.....	xv
Gambar 11. Hasil Penampakan Fraksi II Pada Lampu UV 366.....	xvi
Gambar 12. Hasil Penampakan Fraksi II Pada Lampu UV 254.....	xvii
Gambar 13. Identifikasi Senyawa Antioksidan pada fraksi I menggunakan DPPH....	xviii
Gambar 14 Identifikasi Senyawa Antioksidan pada fraksi II menggunakan DPPH....	xviii

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian I.....	xviii
Lampiran 2. Alur penelitian II.....	xviii
Lampiran 3. Perhitungan.....	xviii
Lampiran 4. Gambar Penelitian.....	xviii



## ABSTRAK

**Nama Penulis** : Asmirah Rezky Nur Octaviani

**NIM** : 70100114061

**Judul Skripsi** : **Pengujian Aktivitas Antioksidan Dari Fraksi Heksan Daun Botto-Botto (*Chromolaena Odorata* (L.) Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Dan Reaksi Warna Dengan (2,2- Difenil- 1- Pikrilhidrazil ( DPPH )**

---

Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang terbentuk sebagai hasil dari metabolisme oksidatif yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolisme yang terjadi dalam tubuh. Senyawa antioksidan dapat berfungsi sebagai penangkap radikal bebas, membentuk kompleks dengan logam-logam peroksida dan sebagai senyawa pereduksi. Daun botto-botto (*Chromolaena odorata* L.) adalah salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan. Sampel yang digunakan daun botto-botto (*Chromolaena odorata*). yang di ekstraksi dengan metanol yang selanjutnya di partisi dengan n-heksan dan etil asetat. Partisi n-heksan kemudian difraksinasi. Setelah di fraksinasi kemudian hasil fraksi di gabungkan menjadi beberapa fraksi

Dari sampel ekstrak, partisi heksan, dan fraksi tingkat 1 A-N(13 Fraksi) kemudian penggabungan fraksi menjadi 8 gabungan fraksi sedangkan fraksi tingkat II

A-H (14 fraksi) . Berdasarkan hasil pengamatan dapat disimpulkan bahwa fraksi tingkat pertama 6 gabungan fraksi memiliki aktivitas antioksidan yakni F2,F3,F4,F5,F6,F8 dan F1,F7 tidak memiliki aktivitas antioksidan. Sedangkan untuk sampel fraksi tingkat kedua semua gabungan fraksi memiliki aktifitas antioksidan yakni F1- F8.

**Kata kunci** : *Chromolaena odorata*, Reactive Oxygen Species (ROS)

## ABSTRACT

**Nama Penulis** : Asmirah Rezky Nur Octaviani  
**NIM** : 70100114061  
**Judul Skripsi** : Testing The Antioxidant Activity of the Botto-Botto hexane fraction using thin Layer Chromatography and color Reaction With(2,2- Difenil- 1-Pikrilhidrazil ( DPPH )

---

Antioxidants are substances that can counteract the harmful effects of free radicals or Reactive Oxygen Species (ROS) which form as a result of oxidative metabolism, which is the result of chemical reactions and metabolic processes that occur in the body. Antioxidant compounds can function as free radical scavengers, forming complexes with peroxide metals and as reducing compounds. The botto-botto leaf (*Chromolaena odorata* L.) is one of the plants that has antioxidant activity. This study aims to find fractions that have antioxidant activity. Samples used are botto-botto leaves (*Chromolaena odorata*). extracted with methanol which is then partitioned with n-hexane and ethyl acetate. The n-hexane partition is then fractionated. After fractionation, the fraction results are combined into several fractions

From the extract sample, hexane partition, and level 1 A-N fraction (13 fractions) then the fraction is combined into 8 fraction combinations while the second fraction

A-H (14 fractions). Based on the observations it can be concluded that the first level fraction 6 combined fraction has antioxidant activity namely F2, F3, F4, F5, F6, F8 and F1, F7 does not have antioxidant activity. Whereas for the second level fraction sample all fractions combined have antioxidant activity namely F1-F8.

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang

Makanan instant (siap saji) yang banyak dikonsumsi masyarakat saat ini dapat mengandung xenobiotik seperti bahan pengawet, zat warna, penyedap rasa, serta zat kimia lain yang sangat berbahaya apabila dikonsumsi secara terus menerus. Xenobiotik dapat menjadi radikal bebas di dalam tubuh manusia (Apriandi, 2011). Radikal bebas dapat merusak sistem imunitas tubuh dan juga dapat memicu timbulnya berbagai penyakit degeneratif seperti penyakit kanker dan stroke. Oleh karena itu pembentukan radikal bebas harus dihalangi atau dihambat dengan antioksidan. (Kadek, Parwati, Napitupulu, & Diah, 2014)

Radikal bebas dapat didefinisikan sebagai suatu atom atau molekul yang eaktif memiliki elektron tidak berpasangan dan menginduksi radikal bebas. *Reactive Oxygen Species* (ROS) secara luas diyakini terlibat sebagai penyebab berbagai penyakit seperti penuaan dini, kanker, penyakit jantung koroner, penyakit alzheimer, gangguan neurodegeneratif, aterosklerosis, katarak dan termasuk peradangan yang ditunjukkan dengan tanda-tanda stress oksidatif. Senyawa ROS diantaranya adalah radikal anion superoksida, oksigen singlet, hydrogen peroksida dan radikal hidroksil yang sangat reaktif (Nugraha, Firmansyah, & Jumaryatno, 2017).

Indonesia dikenal sebagai gudang tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat. Penggunaan berbagai jenis tumbuhan di Indonesia sebagai tanaman obat

tradisional telah lama dikenal oleh masyarakat jauh sebelum perkembangan obat-obatan sintetik. Penggunaan obat-obatan tradisional kembali meningkat seiring dengan kesadaran masyarakat terhadap dampak yang ditimbulkan dari penggunaan obat-obatan sintetik sehingga masyarakat banyak yang beralih dari mengkonsumsi obat-obatan sintetik ke obat-obatan tradisional. Selain itu Indonesia diakui oleh dunia sebagai Negara yang memiliki 30.000 tanaman berbunga, 7000 spesies tanaman obat dan 940 spesies telah diidentifikasi memiliki sifat sebagai obat (Widyawaruyanti, 2011).

Tanaman botto-botto (*Chromolaena odorata* (L) merupakan salah satu tanaman endemik di Indonesia yang dianggap sebagai tanaman liar, dan bahkan telah dikategorikan sebagai gulma nomor satu yang menjadi prioritas untuk dikendalikan.

Penggunaan tradisional *Chromolaena odorata* (L) sebagai sumber obat telah banyak digunakan di negara Afrika Barat dan negara-negara Asia. Tanaman ini digunakan untuk tujuan terapeutik atau sebagai prekursor untuk sintesis obat yang berguna.

Beberapa aktifitas yang ditunjukkan oleh ekstrak daun botto-botto ialah potensi aktivitas penyembuhan luka, antibakteri, antimalaria, antiinflamasi, antioksidan, analgesik dan antiimunosupresif, sitotoksik, antifungi, efektif untuk kanker payudara, dan aktifitas lainnya. Golongan Senyawa yang mungkin memberikan aktifitas farmakologi ialah, flavanoid, terpen, steroid, yang diisolasi dari tanaman tersebut (Finnie, 2015 hal. 8)

Kandungan kimia dari tanaman botto-botto yaitu, flavanoid (yaitu, rhamnetin, tamarixetin, ombuin, kaempferid, isosakuranetin, odoratin, rhamnocitrin, laciniatin, acacetin, luteolin), fenolik (seperti p-cumaric, ferulic, asam vanilic), alkaloid, dan kaya akan esensial oil seperti  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, germacrene D,  $\beta$ -copaen-4-alpha-ol,  $\beta$ -caryophyllene, geigerene, pregeijerene, cadinene, camphor, limonene. (Finnie, 2015 hal. 4)

Dalam hadist-hadist Nabi shallallahu ‘alaihi wa sallam juga banyak menjelaskan tentang pengobatan, salah satunya dalam sabda beliau :

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Tidaklah Allah menurunkan suatu penyakit, melainkan Dia turunkan pula obat untuk penyakit tersebut." (HR. Bukhari).

Salah satu nikmat dari Allah ketika Allah Subhaanahu wata’aala, memberikan obat dari penyakit apa saja yang diderita oleh seorang hamba. Disebutkan pula pada riwayat yang lain,yaitu:

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عِلْمُهُ مَنْ عِلْمُهُ وَجْهُهُ مَنْ جْهُهُ

“Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya. Obat itu diketahui oleh orang yang bisa mengetahuinya dan tidak diketahui oleh orang yang tidak bisa mengetahuinya.” (HR. Ahmad, Ibnu Majah, dan Al-Hakim, beliau menshahihkannya dan disepakati oleh Adz-Dzahabi. Al-Bushiri menshahihkan hadits ini dalam Zawa’id-nya.

Hadits di atas memberikan pengertian kepada kita bahwa semua penyakit yang menimpa manusia maka Allah turunkan obatnya. Kadang ada orang yang menemukan obatnya, ada juga orang yang belum bisa menemukannya. Oleh karenanya seseorang harus bersabar untuk selalu berobat dan terus berusaha untuk mencari obat ketika sakit sedang menimpanya.



Salah satu solusi untuk menyelesaikan masalah tersebut adalah melalui pengelolaan dan pemanfaatan sumber daya alam yang dimiliki oleh negara Indonesia. Indonesia memiliki keanekaragaman hayati di dunia sehingga dapat dikelola. Salah satu jenis tumbuhan yang digunakan secara empiris oleh sebagian masyarakat yang berpotensi sebagai obat yaitu tanaman Botto-Botto

Dalam alquran di jelaskan Allah SWT menciptakan alam dan isinya seperti hewan dan tumbuhan dengan hikmah yang sangat besar, semuanya tidak ada yang sia-sia dalam ciptaanNya. Manusia diberi kesempatan seluas-luasnya untuk mengambil manfaat dari tumbuh-tumbuhan.

Sesuai dengan Firman Allah dalam QS. Al-Syu'ara'/26:80

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ

Terjemahnya :

“dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan Aku,”(Kementrian agama RI, 2012)

Pada ayat ini tampak dengan jelas bahwa sakit (marald) terkait dengan manusia, sedangkan kesembuhan (syifa') merupakan sesuatu yang diberikan kepada manusia, dan bersandar kepada Allah SWT. Kandungan makna ini mengantarkan kita pada sebuah pemahaman bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya. Apabila obanya sesuai dengan penyakitnya, kesembuhan akan terjadi, dan atas izin dari Allah SWT.

Selain itu ada juga hadist riwayat Bukhari yang artinya“*Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali Dia juga menurunkan penawarnya.*” (HR Bukhari). Hadis ini memotivasi manusia untuk terus berusaha mencari kesembuhan, mencegah atau meringankan penyakit tersebut karena adanya jaminan dari Allah

SWT bahwa seluruh penyakit yang menimpa seseorang hamba pasti ada obatnya. Islam memerintahkan agar berobat kepada ahlinya karena kesembuhan penyakit datangnya dari Allah SWT dan tidak ada penyakit yang tidak ada obatnya. Pengobatan hukumnya mubah (dibolehkan) karena hal ini telah dilakukan oleh pemimpin kita Rasulullah Muhammad swa, sehingga sama sekali tidak perlu dipersoalkan untuk dilakukannya pengobatan (Shihab, 2009). Bahkan, seandainya tidak ada perintah rinci dari hadis tentang keharusan berobat, prinsip-prinsip pokok yang diangkat dari Al-Quran dan hadist cukup untuk dijadikan dasar dalam upaya kesehatan dan pengobatan. Untuk itu, anjuran terhadap umat islam dalam menjaga kesehatan.

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian terhadap fraksi dari daun Botto-botto untuk aktivitas antioksidan.

## **B. Rumusan Masalah**

1. Apakah fraksi heksan daun Botto-botto (*Chromolaena odorata* L.) memiliki aktivitas antioksidan?
2. Fraksi heksan dari daun Botto-botto (*Chromolaena odorata* L.) yang manakah yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan?

## **C. Defenisi Operasional dan Ruang Lingkup Penelitian**

### **1. Definisi Operasional**

- a. Tumbuhan Botto-botto (*Chromolaena odorata* (L.) merupakan tumbuhan liar yang banyak tumbuh di Sulawesi khususnya di Kabupaten Gowa. Daun Botto-botto banyak dimanfaatkan sebagai obat saat terjadi luka dan pembekuan darah saat terjadi bisul atau borok.

- b. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menyumbangkan atau mendonorkan atom hidrogen atau proton kepada senyawa radikal bebas sehingga senyawa radikal tersebut menjadi lebih stabil.
- c. Ekstraksi adalah kegiatan penarikan zat dengan menggunakan pelarut metanol.
- d. Partisi ekstrak adalah proses pemisahan untuk memperoleh komponen zat terlarut dari campurannya dalam padatan dengan menggunakan pelarut yang sesuai.
- e. Partisi cair padat merupakan pemisahan satu komponen dari padatan dengan melarutkannya dalam pelarut, tetapi komponen lainnya tidak dapat dilarutkan dalam pelarut tersebut.
- f. Fraksinasi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur.
- g. Fraksi  
Fraksi adalah hasil pemisahan senyawa dari proses fraksinasi berdasarkan tingkat kepolaran
- h. identifikasi  
identifikasi didefinisikan sebagai pengidentifikasian senyawa antioksidan pada setiap fraksi dengan melihat hasil positif berupa perubahan warna dari ungu menjadi kuning tanpa mengidentifikasi golongan senyawanya

## **2. Ruang Lingkup Penelitian**

Ruang lingkup penelitian ini mengkaji bagaimana fraksi heksan daun Botto-botto (*Chromolaena odorata* (L.) memiliki aktivitas antioksidan.

#### **D. Kajian Pustaka**

1. Penelitian yang dilakukan oleh Simanjuntak dkk pada tahun 2016 dengan judul “Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kimia Zat Anti Kanker dari daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* (L)). Uji Aktivitas Antioksidan dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas menggunakan reagen DPPH (1,1-Difenil 2-pikrilhidrazil) dilakukan berdasarkan cara Molyneux. Hasil uji antioksidan diperoleh secara visual terbukti adanya perubahan warna larutan DPPH dari semula ungu menjadi kuning pada saat ditambahkan ke dalamnya ekstrak etil asetat dan etanol. Ekstrak n-heksan dan air tidak mengalami perubahan warna. Perubahan warna inilah yang menunjukkan bahwa terjadi perendaman radikal bebas dari molekul DPPH oleh senyawa kimia yang ada di dalam larutan dimana ekstrak etil asetat memberikan persen hambat radikal bebas terbesar yakni 89,08%.

2. Marianne,(2014), Antidiabetic Activity of Leaves Ethanol Extract *Chromolaena odorata* (L.) R.M. King on Induced Male Mice with Alloxan Monohydrate, menyatakan bahwa *Chromolaena odorata* (tekelan) memiliki sifat antioksidan dan mampu menangkal radikal bebas yang diyakini sebagai penyebab berbagai penyakit degeneratif dan penuaan dini. Sifat antioksidan ini dikaitkan dengan kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam daun tekelan, terutama flavonol, flavanone, chalcone, flavone, asam hidroksibenzoat dan asam hidroksinamat

Pada jurnal penelitian di atas, telah diketahui potensi yang terkandung pada ekstrak etanol daun botto-botto sebagai antidiabetes dengan induksi aloxan

terhadap mencit. Sedangkan pada penulis, melakukan penelitian kandungan senyawa kimia apa yang terkandung dari fraksi daun botto-botto sehingga dapat memiliki aktivitas antioksidan

3. Rofida, (2015), Anti bacterial Activity Of *Chromolaena Odorata* (L) King Leaves With Bioautography Dari hasil skrining fitokimia daun botto- botto (*Chromolaena Odorata*) menggunakan metode kromatografi lapis tipis, daun botto-botto mengandung saponin, polyphenols, tannin, flavonoid, and terpenoid, sedangkan penulis ingin melakukan penelitian kandungan senyawa kimia apa yang terkandung dari fraksi daun botto-botto sehingga dapat memiliki aktivitas antioksidan.

## **E. Tujuan dan Manfaat Penelitian**

### **1. Tujuan Penelitian**

Untuk menentukan fraksi heksan daun Botto-botto (*Chromolaena odorata* L.) yang memiliki aktivitas antioksidan.

### **2. Manfaat Penelitian**

#### **a. Bagi Peneliti**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dan pengetahuan sebagai bahan untuk penelitian selanjutnya.

#### **b. Bagi Masyarakat**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi secara ilmiah kepada masyarakat tentang khasiat dari daun botto-botto (*Chromolaena odorata*) sebagai antiradical sehingga dapat meningkatkan kepercayaan dan ilmu

pengetahuan masyarakat tentang khasiat dari botto-botto (*Chromolaena odorata*), serta dapat dimanfaatkan sebagai tanaman potensi daerah.



## BAB II

### TINJAUAN TEORITIS

#### A. Uraian Tanaman

##### 1. Klasifikasi tanaman (Tjitrosoepomo, 2010)

Regnum	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Class	: Dicotyledonae
Ordo	: Asterales
Family	: Asteraceae
Genus	: Chromolaena
Spesies	: <i>Chromolaena odorata</i> (L)



##### 2. Nama Daerah (Prawiradiputa, 2007)

*Chromolaena odorata* (L) dikenal di Indonesia dan negara lain dengan nama yang berbeda. Di Makassar khususnya, spesies ini dikenal dengan beberapa nama, seperti Botto-botto, Laruna, dan Gondrong-gondrong. Beberapa daerah lain misalnya, memiliki nama tersendiri, Kopasanda di Maros, Ki Rinyuh di Sunda, Tekelan di Jawa, *Siam Weed* atau *Jack in the Bush* di Inggris

### 3. Morfologi Tumbuhan

Botto-botto (*Chromolaena odorata* L. *Asteraceae*: *Asterales*) dalam bahasa Inggris disebut *siam weed*, merupakan gulma padang rumput yang penyebarannya sangat luas di Indonesia. Gulma ini diperkirakan sudah tersebar di Indonesia sejak tahun 1910-an, tidak hanya di lahan kering atau pegunungan, tetapi juga di lahan rawa dan lahan basah lainnya. Botto-botto termasuk keluarga *Asteraceae/Compositae*. Daunnya berbentuk oval, bagian bawah lebih lebar, makin ke ujung makin runcing. Panjang daun 6 -10 cm dan lebarnya 3- 6 cm, tepi daun bergerigi, menghadap ke pangkal. Karangan bunga terletak di ujung cabang (terminal) (Prawiradiputa, 2007).

Tanaman ini membentuk semak, tinggi tumbuhan dewasa berkisar 3-7 meter tingginya ketika tumbuh di tempat terbuka. Batang muda berwarna hijau dan agak lunak yang kelak akan berubah menjadi coklat dan keras (berkayu) apabila sudah tua. Letak cabang biasanya berhadap-hadapan (oposit) dan jumlahnya sangat banyak. Percabangannya yang rapat menyebabkan berkurangnya cahaya matahari ke bagian bawah, sehingga menghambat pertumbuhan spesies lain, termasuk rumput yang tumbuh di bawahnya. Dengan demikian gulma ini dapat tumbuh sangat cepat dan mampu mendominasi area dengan cepat pula. Kemampuannya mendominasi area dengan cepat ini juga disebabkan oleh produksi bijinya yang sangat banyak (Phan, 2004).

Tumbuhan ini sangat cepat tumbuh dan berkembang biak. Karena cepat perkembangbiakan dan pertumbuhannya, gulma ini cepat membentuk komunitas sehingga dapat menghalangi tumbuhnya tumbuhan lain. Botto-Botto dapat



tumbuh pada ketinggian 1000–2800 m dpl, tetapi di Indonesia banyak ditemukan di dataran rendah (0–500 m dpl) seperti di kebun karet dan kelapa serta di padang penggembalaan. (Prawiradiputra, 2006)


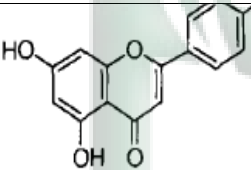
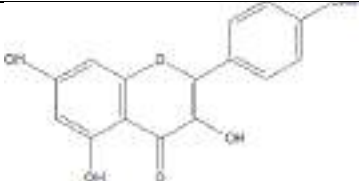
#### 4. Kandungan Senyawa dan Kegunaan

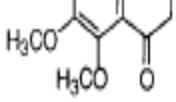

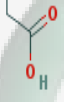



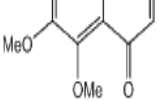
*Chromolaena odorata* diketahui mengandung senyawa fitokimia antara lain: quinon, steroid, terpenoid, glikosida jantung .

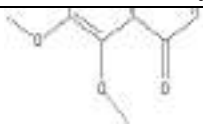




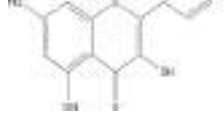
Tumbuhan ini banyak mengandung tannin, polifenol, kuinon, flavonoid, steroid, triterpenoid, dan monoterpen (Sudarmo, 2014). *Chromolaena odorata* diketahui mengandung senyawa fitokimia antara lain: quinon, steroid, terpenoid, glikosida jantung, saponin, alkaloid, tannin, flavonoid, flavonon, flavon, flavonoid glukosid, pirolizidin alkaloid, dan essential oil (Julian, 2015).

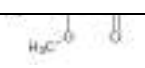
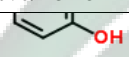
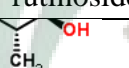

Tabel 1. Kandungan Senyawa Kimia dan Aktivitasnya

No.	Senyawa	Aktifitas	Referensi
1.	2'-hydroxy-4,4',5',6-tetramethoxychalcone	Antikanker	(Kouamé, et al., 2012)
2.	6-methylenebis(5,7-dihydroxy-4-methoxyflavanone)	Memiliki efek transaktivasi terhadap PPAR $\gamma$	(Manli, 2015)
3.	Arsetin	Antikanker (Melawan NCI-H187) Dan	(Suksamrarn, 2004)

		Antimikroba (Menghambat pertumbuhan <i>Mycobacterium tuberculosis</i> )	
4.	 Isokuarsetin	Antimikroba (Menghambat pertumbuhan <i>Mycobacterium tuberculosis</i> )	(Suksamrarn, 2004)
5.	 Luteolin	Antikanker (Memiliki kemampuan melawan NCI-H187 dan MCF7) dan Antimikroba (Menghambat pertumbuhan <i>Mycobacterium tuberculosis</i> )	(Suksamrarn, 2004)
6.		Antimalaria	(Emeje, 2014)

	Quercetin-4'-methyl ether		
7.	 <p>4'-Hydroxy-5,6,7-trimethoxyflavanone</p>	Antimikroba (Menghambat pertumbuhan <i>Mycobacterium tuberculosis</i> )	(Suksamrarn, 2004)
8.	Sinensetin	Antimikroba	(Atindehou, 2013)
9.	 <p>Linoleamide</p>	Antiinflamasi	(Hang, 2011)
10.	 <p>Coriolid Acid</p>	Antiinflamasi	(Hang, 2011)
11.	 <p>Intermedine</p>		(Biller, et al., 1993)
12.	 <p>(S)-coriolic acid</p>		(Dat, et al., 2009)
13.	 <p>(S)-15,16-didehydrocoriolic Acid</p>	-	(Dat, et al., 2009)
14.		-	(Dat, et al., 2009)

	4,6_-dihydroxy-2_,3_,4_- trimethoxychalcone		
15.	  2'-hydroxy-4,4',5',6'- tetramethoxychalcone	Antikanker	(Kouamé, et al., 2012)
16.	 Germacrene D		(Jasnie, 2009)
17.	 Beta-caryophyllene		(Jasnie, 2009)
18.	 Limonene		(Jasnie, 2009)
19.	 Alpha pinene		(Jasnie, 2009)
20.			(Jasnie, 2009)

	Aromadendrin 4' methyl ether			
21	 5,7-dihydroxy-6,4'- dimethoxyflavanone		(Jasnie, 2009)	5. Keg unaan n
22	 Kaempferol 3-O-rutinoside		(Jasnie, 2009)	D
23	 Quercetin 3-O-rutinoside		(Jasnie, 2009)	ilapo rkan
24	 5 hydroxy-4',7- dimethoxyflavanone (Naringenin)		(Kouamé, et al., 2012)	oleh Ngo zi (200

9) bahwa dalam pengobatan tradisional, botto'-botto' digunakan sebagai bahan alam yang berkhasiat antispasmodik, antiprotozoa, antibakteria, antifungi, antihipertensi, antiinflamasi, astringen, antitripanosoma, diuretik dan bahan hepatotropik. (Ngozi, , 2009)

Senada dengan laporan Ngozi, Vital (2009) juga turut menyebutkan khasiat terapeutik dari botto'-botto' seperti antidiare, antispasmodik, astringen, antihipertensi, antiinflamasi, dan diuretik. Penggunaan daunnya yang dibuat dalam dekokta dimanfaatkan sebagai obat batuk atau bila dicampurkan rumput lemon dan daun jambu biji berkhasiat mengobati penyakit malaria.

Botto'-botto' memberikan keuntungan bagi pertanian, khususnya tanaman pangan. Di India, gulma ini dimanfaatkan untuk meningkatkan hasil berbagai jenis tanaman pangan, seperti kedelai, *cluster bean*, *radish*, palak dan ragi yang tumbuh di sana. (Prawiradiputra, , 2006)

Tabel 2 Kegunaan *Chromolaena odorata* di Asia dan Afrika Selatan :

No.	Aktifitas Farmakologi	Penggunaan tradisional	Referensi
1	Sakit Kepala	Daun	(Gill, 1992)
2	Malaria	Daun	(Ayensu, 1978) (Gill, 1992) (Idu, M.,, 2007)
		Ekstrak kloroform daun efektif terhadap strain plasmodium falciparum in <i>in vitro</i>	(Rungnapa, 2003)
3	Antiseptik	Daun	(Gill, 1992)
4	Diare	Daun	(Amatya,S., 2011) (Bhargava,D.,, 2011)
5	Infeksi fungi	Daun	(Ngono, 2006)
6	Infeksi kulit	Daun	(Owoyele,V.B.,, 2005)
7	Disentri	Daun	(Gill, 1992)
8	Sakit Gigi	Daun	(Gill, 1992)
9	Analgesik	Ekstrak etanol	( Chakraborty et al., 2010)

10	Diuretik	Infusa daun	(Rejitha, 2009)
11	Antimikroba	Daun bunga <i>Chromolaena</i> <i>odorata</i>	(Mullika , 2005) (Suksamrarn, 2004)
12	Antiinflamasi, dan antipiretik	Ekstrak Metanol daun	(Oludare, 2000)
13	Antihipertensi	Daun	(Vaisakh,M.N, , 2012)
14	Aktivitas Koagulasi darah	Daun	(Triratana T., 1991)
15	Antioksidant	Daun	(Phan, Toan Thang et al, 2000)
16	Aktifitas penyembuhan luka	Ekstrak air daun <i>chromolaena odorata</i>	(Biswal PR et al, 1997)
17	Aktifitas anthelmintic	Ekstrak etanol dan kloroform daun <i>chromolaena odorata</i> menunjukkan aktifitas lebih baik dari pada obat albendazole	(Debidani Mishra et, 2010)

## ***B. Uraian Metode Ekstraksi***

### **1. Ekstraksi**

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan. Sebelum ekstraksi dilakukan biasanya bahan-bahan dikeringkan terlebih dahulu kemudian dihaluskan pada derajat kehalusan tertentu (Harbone JB., 1973)

Hasil dari ekstraksi disebut dengan ekstrak yaitu sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.

### **2. Maserasi**

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirak, dan lain-lain ( Dirjen POM, 1986)

Maserasi dapat diklasifikasikan berdasarkan ( Dirjen POM, 1986)

- a. Digesti adalah cara maserasi dengan menggunakan pemansan lemah, yaitu pada suhu antara 40-50°C. Cara maserasi ini hanya dapat dilakukan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan.



- b. Maserasi dengan mesin pengadukan adalah maserasi yang dilakukan dengan menggunakan mesin pengadukan yang berputar terus-menerus, waktu proses maserasi dapat dipersingkat menjadi 6 sampai 24 jam.
- c. Remaserasi adalah penyarian dimana cairan penyari dibagi menjadi 2. Seluruh serbuk simplisia dimaserasi dengan cairan penyari pertama, sesudah diendapkan tuangkan dan diproses, ampas dimaserasi lagi dengan cairan penyari yang kedua.
- d. Maserasi melingkar adalah penyarian yang digunakan dengan cairan penyarian yang selalu mengalir kembali secara berkesinambungan melalui serbuk simplisia dan melarutkan zat aktifnya.
- e. Maserasi melingkar bertingkat adalah metode penyarian yang menggunakan peralatan yang hampir sama dengan maserasi melingkar, tetapi dengan jumlah bejana penambang yang disesuaikan dengan keperluan (lebih banyak).

### **3. Partisi**

#### **a. Partisi Cair-cair**

Ekstraksi cair-cair adalah proses pemisahan zat terlarut dalam 2 macam zat pelarut yang tidak saling bercampur atau dengan kata lain perbandingan konsentrasi zat terlarut dalam pelarut organik dan pelarut air. Ekstraksi cair-cair biasa juga disebut sebagai metode corong pisah. Jika suatu cairan ditambahkan ke dalam ekstrak yang telah dilarutkan dalam cairan lain yang tidak dapat bercampur dengan yang pertama, akan terbentuk dua lapisan. Satu komponen dari campuran akan memiliki kelarutan dalam kedua lapisan tersebut (biasanya disebut fase) dan

setelah beberapa waktu dicapai kesetimbangan konsentrasi dalam kedua lapisan. Waktu yang diperlukan untuk tercapainya kesetimbangan biasanya dipersingkat oleh pencampuran keduanya dalam corong pisah ( Dirjen POM, 1986)

Ekstraksi cair-cair dilakukan dengan cara pemisahan komponen kimia diantara 2 fase pelarut yang tidak saling bercampur. Dimana sebagian komponen larut pada fase pertama, dan sebagian larut pada fase kedua. Lalu kedua fase yang mengandung zat terdispersi dikocok, dan didiamkan sampai terjadi pemisahan sempurna dan terbentuk dua lapisan. Yakni fase cair dan komponen kimia yang terpisah. (Sudjadi, 1988)

#### b. Partisi Cair-padat

Jika suatu cairan ditambahkan ke dalam ekstrak yang telah dilarutkan dalam cairan lain yang tidak bercampur dengan yang utama akan terbentuk 2 lapisan. Satu komponen dari campuran akan memiliki kelarutan dalam kedua lapisan tersebut (biasanya disebut fase) dan setelah beberapa waktu mencapai kesetimbangan konsentrasi dalam kedua lapisan. Kelarutan senyawa tidak bermuatan dalam satu fase pada suhu tertentu tergantung pada kemiripan kepolarannya dengan fase cair, menggunakan prinsip "like dissolve like". (Lubis, A. H., 1994)

### ***C. Fraksinasi***

Fraksinasi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan metanol. Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan n-heksan, etil

asetat untuk menarik senyawa semi polar, sedangkan metanol untuk menarik senyawa-senyawa polar. Dari proses ini dapat diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Sebagaimana diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar juga (Mutiasari, 2012).

Ekstrak awal merupakan campuran dari berbagai senyawa. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama. Fraksinasi dapat dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair atau dengan kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom (KK), size-exclusion chromatography (SEC), solid-phase extraction (SPE) (Mukhrani, 2014).

Kromatografi vakum cair merupakan modifikasi dari kromatografi kolom gravitasi. Metode ini lebih banyak digunakan untuk fraksinasi sampel dalam jumlah besar (10-50 gr). Kolom yang digunakan biasanya terbuat dari gelas dengan lapisan berpori pada bagian bawah. Ukuran kolom bervariasi tergantung ukurannya. Kolom disambungkan dengan penampung eluen yang dihubungkan dengan pompa vakum. Pompa vakum akan menghisap eluen dalam kolom, sehingga proses pemisahan berlangsung lebih cepat. Penggunaan tekanan dimaksudkan agar laju aliran eluen meningkat sehingga meminimalkan terjadinya proses difusi karena ukuran silika gel yang biasanya digunakan pada lapisan kromatografi KLT sebagai fasa diam dalam kolom yang halus yaitu 200-400

mesh. Kolom yang digunakan berukuran lebih pendek dari pada kolom kromatografi gravitasi dengan diameter yang lebih besar (5-10 cm). Kolom KVC dikemas kering dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan kemasan maksimum. Sampel yang akan dipisahkan biasanya sudah diadsorbsikan ke dalam silika kasar terlebih dahulu (ukuran silika kasar 30-70 mesh) agar pemisahannya lebih teratur dan menghindari sampel langsung menerobos ke dinding kaca tanpa melewati adsorben terlebih dahulu, yang dapat berakibat gagalnya proses pemisahan. Pelarut yang kepolarannya rendah dituangkan ke permukaan penyerap yang sebelumnya sudah dimasukkan sampel. Kolom dihisap perlahan-lahan ke dalam kemasan dengan memvakumkannya. Kolom dielusi dengan campuran pelarut yang cocok, mulai dengan pelarut yang kepolarannya rendah lalu kepolaran ditingkatkan perlahan-lahan. Kolom dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi, sehingga kromatografi cair vakum disebut juga kolom fraksinasi (Atun, 2014).

Kromatografi kolom merupakan salah satu contoh kromatografi adsorpsi. Senyawa yang dipisahkan dengan kromatografi kolom memiliki mekanisme yang sama dengan jenis kromatografi lain yaitu berkaitan dengan perbedaan gaya-gaya antarmolekul dalam sampel dengan fase gerak dan antara komponen dengan fase diam. Prinsip kerja kromatografi kolom yaitu zat cair sebagai fase gerak akan membawa cuplikan senyawa mengalir melalui fase diam sehingga terjadi interaksi berupa adsorpsi senyawa-senyawa tersebut oleh padatan dalam kolom. Kecepatan bergerak suatu komponen dalam cuplikan tergantung pada seberapa besar/lama komponen tersebut tertahan oleh padatan penyerap dalam kolom. Hasil yang

diperoleh berupa fraksi-fraksi senyawa yang ditampung pada bagian bawah kolom (Rubiyanto, 2016).

*Air murni < metanol < etanol < propanol < aseton < etil asetat < dietil eter < kloroform < metilen klorida < benzena < toluena < trikloro etilen < karbon tetraklorid < sikloheksana < heksana*

Urutan pelarut-pelarut diatas menunjukkan bahwa semakin turun kepolarannya maka semakin bertambah kekuatan pelarut tersebut untuk mengelusi senyawa yang teradsorpsi oleh silika gel (Rubiyanto, 2016).

#### **D. Radikal Bebas**

Radikal bebas secara normal diproduksi oleh tubuh sebagai hasil samping metabolisme aerob (Fang *et al.*, 2002). Apabila produksinya berlebih, maka radikal bebas tersebut dapat menyebabkan kerusakan sel termasuk lemak, membran, protein dan DNA (Valko *et al.*, 2006). Adanya paparan radiasi sinar matahari juga menyebabkan terbentuknya spesi oksigen reaktif yang juga menyebabkan kerusakan biomolekul dalam tubuh (Fang *et al.*, 2002). Ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan enzim antioksidan alami dalam tubuh (seperti SOD, GPx, CAT, dan lain sebagainya) dapat menurunkan ketahanan tubuh terhadap kerusakan dan penyakit (Valko *et al.*, 2006). Salah satu akibat merugikan yang ditimbulkan oleh adanya radikal bebas pada tubuh manusia adalah oksidasi lipid atau lipid peroksidasi (Mylonas & Kuretas, 1999).

Radikal bebas merupakan atom, molekul atau senyawa-senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan yang bersifat sangat reaktif dan tidak stabil (Surai, 2003). Agar menjadi stabil, radikal bebas

memerlukan elektron yang berasal dari pasangan elektron disekitarnya, sehingga terjadi perpindahan elektron dari molekul donor ke molekul radikal untuk menjadikan radikal tersebut stabil (Simanjuntak, *et al.*, 2012).

Secara garis besar, mekanisme penangkapan radikal bebas dapat dibedakan menjadi dua macam, yaitu secara enzimatik dan non-enzimatik. Enzim yang dapat berperan sebagai antioksidan adalah *superoxyde dismutase* (SOD); glutathion peroksidase, katalase, tioredoksin reduktase dan peroksiredoksin (Masella, Di Benedeto, Vari, Filesi, dan Giovannini, 2005). Secara non-enzimatik, senyawa antioksidan bekerja melalui empat cara, yaitu sebagai : (Huang *et al.*, 2005).

- a. Penangkap radikal bebas, misalnya vitamin C dan vitamin E.
- b. Pengkelat logam transisi, misalnya EDTA.
- c. Inhibitor enzim oksidatif, misalnya aspirin dan ibuprofen.
- d. Kofaktor enzim antioksidan, misalnya selenium sebagai kofaktor glutathion Peroksidase.

#### ***E. Antioksidan***

Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang terbentuk sebagai hasil dari metabolisme oksidatif yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi dalam tubuh. Senyawa antioksidan dapat berfungsi sebagai penangkap radikal bebas, membentuk kompleks dengan logam-logam peroksida dan sebagai senyawa pereduksi (Goldberd, 2003).

Banyak proses fisiologis dan biokimia dalam tubuh manusia (endogen) dapat menghasilkan radikal bebas dan senyawa oksigen reaktif (ROS) lainnya seperti proses autooksidasi, aktivitas oksidasi, dan system transpor elektron. Selama produksi radikal bebas tersebut dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada biomolekul (misalnya lipid, protein, DNA) dan akhirnya menimbulkan berbagai penyakit kronis, seperti aterosklerosis, kanker, diabetes, dan penyakit degeneratif lainnya pada manusia (Ivanisova, *et al.*, 2013). Selain dari dalam tubuh, sumber radikal bebas dapat berasal dari luar tubuh manusia (eksogen) meliputi asap rokok, polusi lingkungan, radiasi, sinar ultraviolet, obat-obatan, pestisida, anestetik, pelarut industri, dan ozon (Langseth, 1995).

Antioksidan dapat menangkap radikal bebas sehingga dapat menghambat mekanisme oksidatif yang merupakan penyebab penyakit-penyakit kronis dan degeneratif seperti penyakit jantung, kanker, katarak, disfungsi otak dan artritis (Miller, *et al.*, 2000). Mekanisme kerja antioksidan memiliki beberapa fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu memberikan atom hidrogen yang berasal dari gugus hidroksi senyawa fenol sehingga terbentuk senyawa yang stabil. Senyawa antioksidan yang termasuk kelompok ini misalnya BHA, BHT, PG, TBHQ, dan tokoferol. Antioksidan yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Antioksidan tersebut dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida ( $R^*$ ,  $ROO^*$ ) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan ( $A^*$ ) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibandingkan radikal lipida.

Fungsi kedua merupakan mekanisme fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil. Senyawa-senyawa ini mempunyai kemampuan untuk mendekomposisi hidroperoksida menjadi produk akhir yang stabil. Tipe antiosidan ini pada umumnya digunakan untuk menstabilkan polyolefin resin. Contohnya, asam tiodipropionat dan dilaurltiopropionat (Gordon, 1990).

Fungsi ketiga adalah sebagai *Oxygen scavengers*, yaitu senyawa-senyawa yang berperan sebagai pengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi. Dalam hal ini, senyawa tersebut akan mengadakan reaksi dengan oksigen yang berada dalam system sehingga jumlah oksigen akan berkurang. Contoh dari senyawa-senyawa kelompok ini adalah vitamin C (asam askorbat), askorbilpalminat, asam eritorbat, dan sulfit (Gordon, 1990).

*Antioxidant Enzyme* merupakan enzim yang berperan mencegah terbentuknya radikal bebas. Contohnya glukose oksidase, superoksidase dismutase (SOD), glutation peroksidase, dan katalase. Selain itu, ada juga senyawa-senyawa yang mampu mengikat logam seperti besi dan tembaga yang mampu mengkatalisis reaksi oksidasi lemak. Senyawa-senyawa ini disebut juga dengan *Chelators sequestrants*, yang termasuk didalamnya adalah asam sitrat, asam amino, ethylenediaminetetra acetid acid (EDTA), dan fosfolipid Gordon, 1990).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan dibedakan menjadi 3 kelompok, yaitu : (Kumalaningsih, 2008)



a. Antioksidan Primer

Antioksidan primer merupakan antioksidan yang bekerja dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas baru dan mengubah radikal bebas menjadi molekul yang tidak merugikan. Contohnya adalah *butyl hidroksil toluen* (BHT), *tersier butyl hidro Quinon* (TBHQ), propil galat, tokoferol alami maupun sintetis dan alkil galat.

b. Antioksidan Sekunder

Antioksidan sekunder merupakan senyawa yang dapat mencegah kerja prooksidan yaitu faktor-faktor yang mempercepat terjadinya reaksi oksidasi logam-logam seperti : Fe, Pb, Cu, dan Mn. Antioksidan sekunder berfungsi menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Contohnya : vitamin E, vitamin C, dan betakaroten yang dapat diperoleh dari buah-buahan.

c. Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Contoh antioksidan tersier yaitu jenis enzim misalnya metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim tersebut bermanfaat untuk perbaikan DNA pada penderita kanker.

Menurut Nabes (1996) menyatakan bahwa pada sistem pertahanan preventif, pembentukan senyawa ROS dan radikal bebas dihambat dengan mengikat logam atau merusak pembentukannya. Sistem pengikatan logam tersebut terjadi dalam cairan ekstraseluler. Sebaliknya di dalam cairan

intraseluler, senyawa ROS dan radikal bebas dirusak oleh system enzim. Reaksi antara radikal bebas dan molekul itu berujung pada timbulnya suatu penyakit, yaitu :

1. Kerusakan DNA pada inti sel

Senyawa radikal bebas merupakan salah satu faktor penyebab kerusakan DNA disamping penyebab lain seperti virus, radiasi, dan zat kimia karsinogen. Bila kerusakan tidak terlalu parah, masih dapat diperbaiki oleh system perbaikan DNA. Namun bila sudah menyebabkan rantai DNA terputus diberbagai tempat, kerusakan ini tidak dapat diperbaiki lagi sehingga pembelahan sel akan terganggu bahkan terjadi perubahan abnormal yang mengenai gen tertentu dalam tubuh yang dapat menimbulkan penyakit kanker (Reynertson, 2001).

2. Kerusakan protein

Terjadinya kerusakan protein akibat serangan radikal bebas termasuk proses oksidasi protein yang mengakibatkan terjadinya kerusakan pada jaringan protein tersebut. Contohnya meningkatnya kadar LDL (Low Density Lipoprotein) oleh oksigen reaktif dapat merusak dinding arteri yang menyebabkan aterosklerosis (Langseth, 1995).

3. Kerusakan Lipid Peroksida

Proses ini berlangsung bila radikal bebas menyerang lemak tak jenuh dalam tubuh sehingga terjadi peroksidasi yang menyebabkan munculnya penyakit seperti iskemia, aterosklerosis, diabetes mellitus, dan penuaan kulit.

#### 4. Proses Penuaan

Terjadinya kerusakan jaringan disebabkan radikal bebas yang merupakan proses terjadinya penuaan, seperti kehilangan elastisitas jaringan kolagen dan otot sehingga kulit tampak keriput, terjadinya lipofuchsin atau bintik-bintik pigmen kecoklatan di kulit yang merupakan timbunan sisa pembakaran dalam sel.

Berdasarkan sumber antioksidan dibagi menjadi dua kelompok yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami yaitu : (Isnindar, *et al.*, 2011)

##### a. Antioksidan Alami

Antioksidan alami merupakan jenis antioksidan yang berasal dari tumbuhan dan hewan (Purwaningsih, 2012). Antioksidan alami umumnya memiliki gugus hidroksi dalam struktur molekulnya. Antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan adalah senyawa fenolik berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam organik polifungsional (Isnindar, *et al.*, 2011). Di seluruh bagian tumbuhan baik pada kayu, biji, daun, akar, bunga, maupun serbuk sari terdapat senyawa fenolik. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan belakangan ini banyak diteliti, karena flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas (Zuhra, Taringan, & Sihotang, 2008). Senyawa kimia yang tergolong antioksidan dan dapat ditemukan secara alami diantaranya adalah asam ellagik, proantosianidin, polifenol, karotenoid, astaxanthin, tokoferol, dan glutathione.

#### b. Antioksidan Sintetik

Antioksidan sintetik yang diizinkan dan umum digunakan untuk makanan yaitu *butylated hydroxyl anisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), dan profil galat. Pada saat ini penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena beberapa antioksidan terbukti bersifat karsinogenik dan beracun terhadap hewan percobaan (Zuhra, Taringan, & Sihotang, 2008). Telah dilaporkan bahwa penggunaan antioksidan sintetik seperti *butylated hydroxyl anisole* (BHA) dan *butylated hydroxytoluene* (BHT) dapat memperburuk kesehatan manusia yaitu gangguan fungsi hati, paru, mukosa usus dan keracunan. Pada dosis tertentu antioksidan sintetik dapat menimbulkan keracunan. Menurut rekomendasi *Food dan Drug Administration*, dosis antioksidan sintetik yang diizinkan dalam pangan adalah 0.01%-0.1% (Panagan, 2011).

#### ***F. Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan Secara Kualitatif***

Terdapat beberapa metode pengujian aktivitas antioksidan baik secara kualitatif maupun secara kuantitatif. Uji kualitatif untuk mengetahui apakah suatu senyawa memiliki aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan metode kromatografi baik kromatografi lapis tipis atau kromatografi kertas. Metode ini dapat untuk memisahkan campuran antioksidan yang kompleks sekalipun (Davidek, 1997).

Pereaksi semprot yang digunakan untuk deteksi dapat dibedakan menjadi empat kelompok, yaitu : (Davidek, 1997)

- a. Senyawa-senyawa yang dapat membentuk warna ketika tereduksi (kalium permanganate, ferri-sianida, ferri-dipiridil, dan asam fosfomolibdat);
- b. Senyawa yang dapat berikatan dengan senyawa fenol, seperti senyawa diazo, pereaksi diazo, magnesium sulfat, anisaldehyd, vanillin dan pereaksi Gibss yang membentuk indofenol (akan membentuk garam berwarna dalam kondisi basa);
- c. Radikal bebas stabil yang menerima radikal hydrogen dari antioksidan (I,I-difenil-2-pikrilhidrazil);
- d. Senyawa-senyawa yang membentuk senyawa adisi yang berwarna (palladium klorida).

#### **G. Vitamin A (BetaKaroten)**

Vitamin A memiliki peran sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan elektron dari atomnya kepada radikal bebas untuk berikatan dengan elektron yang tidak berpasangan (tunggal) dari radikal bebas tanpa menjadi radikal bebas baru (Kartawiguna, 1998). Vitamin A merupakan salah satu jenis vitamin yang larut lemak. Vitamin A membantu menjaga pertumbuhan jaringan epitel, mata, rambut dan tulang. Selain itu juga digunakan untuk pengobatan kelainan kulit seperti acne. Vitamin mempunyai efek toksik jika digunakan secara berlebihan (Kamiensky, Keogh 2006).

Betakaroten merupakan salah satu bentuk pigmen dari karoten (carotenoid). Karoten berfungsi sebagai antioksidan, sedangkan betakaroten merupakan salah satu bentuk senyawa karoten sebagai penawar yang kuat untuk

oksigen reaktif (suatu radikal bebas destruktif ) (Tim Redaksi Vitahealth, 2004). Ditambahkan oleh Esvandiary (2007) bahwa beta karoten juga mampu menangkap oksigen reaktif dan radikal peroksid lalu menetralkannya. Hidajat (2005) mengatakan bahwa betakaroten sebagai antioksidan yang larut dalam lemak yang dapat menjaga terhadap proses pengrusakan oksidasi dinding sel yang terdiri dari lemak.

Vitamin A memiliki peran sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan elektron dari atomnya kepada radikal bebas untuk berikatan dengan elektron yang tidak berpasangan (tunggal) dari radikal bebas tanpa menjadi radikal bebas baru (Kartawiguna, 1998). Selain itu vitamin A juga berfungsi untuk mempertahankan stabilitas membran sel terhadap radikal bebas (WHO, 2004).

Vitamin A atau lebih tepatnya provitamin betakaroten, memang memiliki daya antioksidan.. Vitamin A didapat dalam 2 bentuk yaitu performed vitamin A (vitamin A, retinoid, retinol, dan derivatnya) dan provitamin A (karotenoid/ karoten dan senyawa sejenis). Sumber makanan yang mengandung vitamin A antara lain semua jenis susu, mentega, telur, sayuran dengan daun berwarna hijau dan kuning, buah-buahan, dan liver (Kamienksy, Keogh 2006)

#### ***H. Tinjauan Islam***

Kebutuhan akan obat-obatan di era modern seperti sekarang ini sangat besar seiring dengan banyaknya berbagai penyakit yang muncul di kalangan masyarakat. Dan salah satu penyakit yang paling berbahaya saat ini adalah tuberkulosis yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Oleh karena itu, dengan munculnya berbagai penyakit di kalangan masyarakat maka masyarakat dituntut untuk menggunakan akal pikirannya yang juga merupakan pemberian dari

sang khalik sebagaimana dijelaskan dalam surah Ali-imran (3): 190-191 yang firmanNya:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ  
الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ  
السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Terjemahnya:

“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka.” (Departemen Agama RI, 2014).

Dari ayat diatas, kita dapat mengambil pelajaran bahwa Allah swt. memberikan akal kepada manusia untuk digunakan dengan sebaik-baiknya dalam mengkaji hasil ciptaan Allah yang terdapat di sekitar kita. Salah satunya adalah dengan melakukan penelitian ini, dimana tujuannya adalah untuk memperoleh obat baru dari tumbuhan botto-botto (*Chromolaena odorata*) yang dapat digunakan sebagai obat anti tuberkulosis.

Allah berfirman dalam Q. S. Asy-syuara (26) : 7.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Terjemahnya :

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (Departemen Agama RI, Al Qur'an dan Terjemahan, 1989 : 572).

Dalam kitab Tafsir al-Mishbah (2002), dijelaskan bahwa ayat ini membuktikan-melalui uraiannya-keniscayaan ke-Esaan Allah swt. karena aneka tumbuhan yang terhampar di persada bumi sedemikian banyak dan bermanfaat lagi berbeda-beda jenis rasa dan warna, namun keadaannya konsisten (Shihab, 2009)

Dari ayat tersebut kita dapat mengambil pelajaran bahwa Allah SWT telah menciptakan berbagai macam tumbuhan-tumbuhan yang baik di muka bumi ini. Dengan begitu, kita dapat memanfaatkan tumbuhan-tumbuhan baik tersebut, salah satunya dalam pengobatan.

Firman Allah swt dalam QS. Al An'am / 6 : 99.

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا مَخْرُجًا مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۚ انْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Terjemahnya:

"Dan dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan. Maka kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai,



dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman" (Q.S Al-An'am: 99).

Menurut Jamaluddin Mahran dalam bukunya Al-Qur'an Bertutur Tentang Makanan & Obat-obatan, bahwa ayat ini menerangkan tentang kekuasaan Allah yang menurunkan hujan dari awan, lantas mengeluarkan tumbuhan dari berbagai jenis, menumbuhkan tanaman, lalu mengistimewakan salah satu organ tubuhnya yakni daun untuk menjadi piranti penghasil zat hijau yang penting untuk memasak bahan makanan. Perhatikanlah keteraturan dan keindahan buahnya, bagaimana ia diciptakan sampai matangnya, bagaimana ia disempurnakan bentuknya yang beraneka (Mahran, 2005).

Dari ayat tersebut dijelaskan dari tumbuhan-tumbuhan tersebut terdapat bagian yang menghijau yaitu daun. Sesuai dengan penelitian ini, yaitu memanfaatkan tanaman hijau tersebut berupa daun botto-botto (*Chromolaena odorata*) sebagai obat baru dalam pengobatan tuberkulosis.

Dengan banyaknya tumbuhan yang dapat dimanfaatkan terutama sebagai obat, maka Rasulullah saw, memerintahkan kita untuk berobat ketika terkena penyakit, sebagaimana hadist yang diriwayatkan oleh Bukhari r.a bahwa Rasulullah saw. bersabda:

Dari Jabir r.a bahwa Rasulullah bersabda:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya:

“Setiap penyakit ada obatnya, jika benar obat yang digunakan dapat melawan penyakit yang dimaksud, maka dengan izin Allah akan sembuh” (HR. Imam Muslim) (Mahmud, 2007: 13-14)

Menurut Muhadi & Muadzin dalam bukunya Semua Penyakit Ada Obatnya, prinsip pengobatan didalam penyembuhan penyakit ala Rasulullah saw. diterapkan tertentu sebagai pedoman yang perlu diketahui dan dilaksanakan. Rasulullah saw. mengajarkan supaya obat yang dikonsumsi si penderita harus halal dan baik. Allah swt. yang menurunkan penyakit kepada seseorang, maka Dia-lah yang menyembuhkannya. Jika kita menginginkan kesembuhan dari Allah swt. maka obat yang digunakan juga harus baik dan diridhai oleh Allah swt. karena Allah melarang memasukkan barang yang haram dan merusak ke dalam tubuh kita (Muadzin, 2009).

Jadi, setiap penyakit yang diturunkan Allah swt pasti ada obatnya, dan setiap pengobatan itu harus sesuai dengan penyakitnya. Jika Allah swt menghendaki maka seseorang akan sembuh dari penyakit yang dideritanya, akan tetapi Allah swt menghendaki agar pengobatan itu dipelajari oleh ahlinya agar sesuai dengan penyakit yang akan diobati sehingga akan mempermudah penyembuhannya.

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Penelitian ini bersifat eksperimental kuantitatif.

#### **B. Waktu dan Tempat Penelitian**

##### **1. Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan April 2018 – Juli 2018.

##### **2. Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi farmasi, Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

#### **C. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi penelitian ini adalah daun botto-botto (*Chromolaena odorata* L)

##### **1. Sampel**

Sampel yang digunakan adalah daun botto-botto (*Chromolaena odorata* L), yang diperoleh dari Samata, Kabupaten Gowa, Sulawesi Selatan.

#### **D. Pendekatan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian *True Experimental* dengan desain penelitian *Control Group Post Test Only*.

#### **E. Alat dan Bahan**

##### **1. Alat**

Peralatan yang digunakan yaitu batang pengaduk, *chamber*, corong, gelas kimia (pyrex®), gelas arloji, gelas ukur (pyrex®), lampu UV 254 dan 366,

*Laminar*, lumpang dan alu, oven, pipet mikro (Bio-Rad), pipet tetes, plate tetes, rotary evaporator (heildoph®), sendok besi, sentripuge, seperangkat alat kromatografi cair vakum, timbangan (Deltarange®), tabung reaksi (pyrex®), tabung sentripuge, timbangan analitik (kern®), toples, vial, vortex (Heidolph®) dan alat-alat gelas serta alat praktikum penunjang yang lain.

## **2. Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah aquadest, daun botto-botto (*Chromolaena odorata*), (DMSO), etil asetat, kertas saring, lempeng KLT, metanol, n-heksan, pereaksi ( $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , *Liebermann-Buchard*, *dragendroff*), dan silika GF 254.

## **F. Prosedur Kerja**

### **1. Penyiapan Sampel**

Sampel penelitian diambil di Gowa, Sulawesi Selatan, sebanyak 10 kg basah, kemudian dibersihkan dari kotoran dan dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Setelah itu diserbukkan.

### **2. Ekstraksi Sampel secara Maserasi**

Sampel daun botto-botto (*Chromolaena odorata*) yang telah diserbukkan dimasukkan ke dalam wadah untuk proses maserasi, dibasahi dengan pelarut metanol hingga semua simplisia terbasahi, diaduk kemudian ditambahkan kembali metanol hingga simplisia terendam. Wadah maserasi ditutup dan disimpan selama 24 jam di tempat yang terlindung dari sinar matahari langsung sambil sesekali diaduk. Selanjutnya disaring. Dipisahkan antara ampas dan filtratnya. Ekstrak

metanol yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan cairan penjarinya sampai diperoleh ekstrak metanol kental.

### **3. Metode Partisi**

Ekstrak metanol daun botto-botto dipartisi dengan cair padat dengan menggunakan pelarut n-heksan, kemudian senyawa yang larut n-heksan dan yang tidak larut dipisahkan, kemudian di sentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 1500 rpm, dan diuapkan. Partisi dilakukan hingga diperoleh larutan jernih. Setelah itu ekstrak yang tidak larut n-heksan dilarutkan dengan etil asetat, kemudian senyawa yang larut etil asetat dan yang tidak larut dipisahkan, kemudian di sentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 1500 rpm, dan diuapkan. Partisi dilakukan hingga diperoleh larutan yang jernih.

### **4. Metode Fraksinasi (Kromatografi Cair Vakum)**

Fraksinasi dilakukan dengan metode KCV (Kromatografi cair vakum), hasil partisi larut etil daun Botto-botto (*Chromolaena odorata* L.) ditimbang sebanyak 15 g, kemudian ditambahkan sebagian silika GF 254 secara sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga homogen, hingga terbentuk bubur ekstrak dan silika. Dimasukkan ke dalam senterglass sisa silika GF 254 dan dimanpatkan, kemudian ditambahkan bubur ekstrak ke dalam senterglass dan dimanpatkan, dan ditutup dengan kertas saring pada bagian atasnya. Cairan pengelusi adalah eluen pertama yang akan digunakan, ditambahkan melalui dinding kolom dijalankan sehingga eluen turun dan mengelusi komponen kimia. Fraksi-fraksi yang diperoleh diuapkan, kemudian diamati profil KLT-nya. Kemudian dilanjutkan

dengan fraksinasi tingkat kedua dengan berat sampel sebanyak 4,3 gram dan fraksinasi tingkat ketiga berat sampel sebanyak 2 gram.

## **5. Uji DPPH**

### **a. Pembuatan Larutan Pereaksi DPPH (2,2 difenil -1- pikrilhidrazil)**

Ditimbang seksama DPPH 10 mg, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a sebanyak 63 ml sehingga diperoleh konsentrasi 0,4 mM dan disimpan pada wadah gelap di dalam lemari es.

### **b. Pembuatan Larutan Pembanding Beta Karoten**

Diambil beta karoten secukupnya, kemudian ditambahkan 3 ml metanol p.a dan dihomogenkan.

### **c. Penyemprotan DPPH pada Lempeng KLT**

Ditotol setiap fraksi daun Botto-botto (*Chromolaena odorata*) pada lempeng KLT kemudian dielusi dengan perbandingan eluen yang sesuai. Kemudian disemprot DPPH dan diamati perubahan warna yang terjadi, jika terjadi perubahan dari warna ungu menjadi warna kuning pada bercak hasil KLT maka senyawa tersebut memiliki aktivitas penangkap radikal.

## **6. Analisis Menggunakan Pereaksi Semprot**

Hasil fraksi dari ekstrak metanol daun Botto-botto (*Chromolaena odorata* L.) kromatogramnya dilihat pada lampu UV 254 nm dan 366 nm, kemudian disemprot dengan menggunakan pereaksi penampak noda sebagai berikut :

1. Pereaksi  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10 % : Kromatogram dipanaskan pada  $105^{\circ}\text{C}$  selama 5 menit dan diamati. Kebanyakan senyawa organik memberikan warna kuning, cokelat, hitam, merah muda.

2. Pereaksi Dragendorff : Akan dihasilkan warna jingga dengan latar belakang kuning untuk senyawa golongan alkaloida.
3. Pereaksi  $\text{FeCl}_3$  5 % : Akan dihasilkan warna hitam-biru atau hijau untuk senyawa fenol.
4. Pereaksi Liebermann-Bouchard : Kromatogram terlebih dahulu dipanaskan, kemudian diamati lampu UV. Munculnya noda berflouresensi coklat atau biru menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan munculnya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya sterol.
5. Pereaksi  $\text{AlCl}_3$  5 % : Diamati di lampu UV, akan dihasilkan noda berflouresensi kuning untuk senyawa golongan flavonoid.



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

##### 1. Ekstrak

Dari 10 kg sampel daun botto-botto basah menjadi 5 kg sampel daun botto-botto kering yang di maserasi dengan pelarut metanol sebanyak 17,5 L, diperoleh ekstrak kental sebanyak 275,4 g.

$$\% \text{ Rendamen} = \frac{274,42 \text{ gram}}{5000 \text{ gram}} \times 100\% = 5,49$$

##### 2. Partisi

Setelah diperoleh ekstrak metanol daun Botto-botto (*Chromolaena odorata* L.), kemudian di partisi dengan metode partisi cair padat menggunakan pelarut n-heksan. Maka diperoleh hasil partisi sebanyak 38 gram.

Partisi merupakan tahap awal pemurniaan ekstrak. Partisi menggunakan dua pelarut yang tak bercampur yang ditambahkan ke dalam ekstrak. Partisi menggunakan dua pelarut tak bercampur yang kepolarannya meningkat (Heinrich, 2005)

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan salah satu metode yang paling banyak digunakan dan paling umum untuk memurnikan sejumlah kecil komponen (2-4). Metode ini menggunakan lempeng kaca atau aluminium yang telah dilapisi dengan penyerap (misalnya silika gel) dengan ketebalan tertentu. Campuran senyawa diisikan 1-2 cm dari tepi dasar lempeng berupa bercak ataupun pita memanjang. Lempeng kemudian dimasukkan ke dalam bejana kromatografi berisi pelarut yang telah ditentukan sebelumnya yang akan meresap naik ke di dalam lempeng dan memisahkan campuran berdasarkan polaritas komponennya.



(Heinrich, 2005). Hasil identifikasi KLT yang diperoleh dari partisi larut etil dengan pelarut n-heksan-etil asetat ialah 1:2 yang kemudian dilanjutkan ke fraksinasi.

### 3. Fraksinasi

Fraksinasi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa pada partisi larut etil asetat 3 gram dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan metanol. Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan n-heksan, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar, sedangkan metanol untuk menarik senyawa-senyawa polar. Dari proses ini dapat diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Sebagaimana diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar juga (Mutiasari, IR, 2012).

Setelah diperoleh hasil partisi n- heksan daun Botto-botto (*Chromolaena odorata* L.), selanjutnya difraksinasi dengan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV) sebanyak 15 gram, kemudian diperoleh 21 fraksi dengan eluen heksan : etil asetat dengan 12 perbandingan . Kemudian digabung menjadi 3 fraksi (1.1, 1.2, dan 1.3). Fraksi 1.2 kemudian difraksinasi kembali dengan Kromatografi Cair Vakum sebanyak 1 gram dengan eluen heksan : etil asetat dengan 10 perbandingan eluen dengan volume 220 ml dan diperoleh hasil fraksi sebanyak 14 fraksi kemudian digabung menjadi 8 fraksi (1.2, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, dan 2.6).

a. Fraksinasi Tingkat I

Fraksinasi ekstrak metanol larut heksan daun botto- botto dengan metode kromatografi cair vakum menggunakan campuran perbandingan eluen hasil profil KLT yang telah diperoleh sebelumnya. Berdasarkan hasil KCV, diperoleh 21 hasil fraksi, yang kemudian dielusi dengan campuran eluen heksan : etil asetat untuk ekstrak larut heksan sehingga diperoleh 8 gabungan fraksi yang sama melalui penampakan bercak lampu UV 254 nm dan 366 nm.

**Tabel.6. Hasil Fraksinasi daun Botto – Botto**

No.	Eluen	Perbandingan eluen	Volume (ml)	keterangan
1.	Heksan : Etil asetat	49 : 1	200	A1 – A2
2.	Heksan : Etil asetat	39 : 1	100	B1 – B2
3.	Heksan : Etil asetat	29 : 1	200	C1 – C5
4.	Heksan : Etil asetat	19 : 1	500	D1 – D5
5.	Heksan : Etil asetat	9 : 1	200	E1 – E2
6.	Heksan : Etil asetat	8 : 2	200	F
7.	Heksan : Etil asetat	7 : 3	200	G
8.	Heksan : Etil asetat	6 : 4	100	H1 – H2
9.	Heksan : Etil asetat	5 : 5	100	I
10.	Heksan : Etil asetat	4 : 6	100	J
11.	Heksan : Etil asetat	2 : 8	100	K
12.	Heksan : Etil asetat	0 : 10	100	L
13.	Metanol	-	100	N

NO	Fraksi gabungan	Fraksi
1	Fraksi F1 (A-B)	49:1 39:1
2	Fraksi F2 (C)	29:1
3	Fraksi F3 (D)	19:1
4	Fraksi F4 ( E1 – E3 )	9:1
5	Fraksi F5 ( F1)	8:2
6	Fraksi F6 ( F2)	8:2
7	Fraksi F7 ( G1- G2)	7:3
8	Fraksi F8 ( G3 –G4)	7:3

#### b.Fraksinasi Tingkat II

Prinsip kerja dari Fraksinasi tingkat II sama seperti fraksinasi tingkat I.

Berdasarkan hasil KCV, diperoleh 14 hasil fraksi, yang kemudian dielusi dengan campuran eluen heksan : etil asetat untuk ekstrak larut heksan sehingga diperoleh 8 gabungan fraksi yang sama melalui penampakan bercak lampu UV 254 nm dan 366 nm.

**Tabel.8. Hasil Fraksinasi Daun Botto-Botto (*Chromolaena odorata* (L.)**

NO	Eluen	Perbandingan eluan	Volume (ml)	Keterangan
1	Heksan	-	20	A1
2	Heksan : Etil asetat	39 : 1	40	B1
3	Heksan : Etil asetat	29 : 1	40	C1
4	Heksan : Etil asetat	19 : 1	20	D1
5	Heksan : Etil asetat	9 : 1	20	E1
6	Heksan : Etil asetat	9 : 1	20	E2
7	Heksan : Etil asetat	9 : 1	20	E3
8	Heksan : Etil asetat	8 : 2	20	D1
9	Heksan : Etil asetat	8 : 2	20	D2
10	Heksan : Etil asetat	7 : 3	20	F1
11	Heksan : Etil asetat	5 : 5	10	G1

12	Heksan : Etil asetat	5 :5	10	G2
13	Heksan : Etil asetat	5:5	10	GE
14	Etil Asetat	0 :10	2[0	H1



UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
**ALAUDDIN**  
 M A K A S S A R

Tabel.9. Hasil Penggabungan Fraksi Ekstrak Daun Botto- Botto (Chromolaena odorata (L. )

NO	Fraksi gabungan	Fraksi
1	Fraksi F1 (A-B )	39: 1
2	Fraksi F2 ( C )	29:1
3	Fraksi F3 ( D )	19:1
4	Fraksi F4 (E1-E3 )	9:1
5	Fraksi F5 ( F1 )	8:2
6	Fraksi F6 ( F2 )	7:3
7	Fraksi F7 ( G1-G2)	5:5
8	Fraksi F8 (G3-G4)	0:10

#### 4. Antioksidan secara Kualitatif dengan Metode Kromatografi Lapis

Tipis

(KLT

1	Fraksi F1 (A-B)	-
2	Fraksi F2 (C)	+
3	Fraksi F3 (D)	+
4	Fraksi F4 ( E1 – E3 )	+
5	Fraksi F5 ( F1)	+

Fraksi tingkat I dan Fraksi tingkat II larut heksan setelah dielusi menggunakan perbandingan eluen 9:1 (Heksan : Etil asetat) diamati dibawah lampu UV 366 dan 254 nm terlebih dahulu. Setelah disemprot DPPH akan membentuk warna kuning dengan latar belakang ungu.

Tabel.10. Hasil Pengujian Antioksidan Fraksi I Heksan Daun Botto-Botto

6	Fraksi F6 ( F2)	+
7	Fraksi F7 ( G1- G2)	-
8	Fraksi F8 ( G3 -G4)	+

Tabel.11. Hasil Pengujian Antioksidan Fraksi II Heksan Daun Botto-Botto



NO	Fraksi gabungan	Antioksidan
1	Fraksi F1 (A-B )	+
2	Fraksi F2 ( C )	+
3	Fraksi F3 ( D )	+
4	Fraksi F4 (E1-E3 )	+
5	Fraksi F5 ( F1 )	+
6	Fraksi F6 ( F2 )	+
7	Fraksi F7 ( G1-G2)	+
8	Fraksi F8 (G3-G4)	+

Keterangan:

( + ) = Positif

( - ) = Negatif

## ***B. Pembahasan***

Radikal bebas pada dasarnya adalah molekul yang pada orbital terluarnya terdapat elektron yang tidak berpasangan sehingga menjadikannya sangat reaktif. Radikal ini apabila masuk kedalam tubuh cenderung mengadakan reaksi berantai yang dapat memicu kerusakan-kerusakan yang berlanjut dan terus-menerus. Radikal bebas yang masuk kedalam tubuh pada dasarnya dapat diatasi oleh antioksidan endogen yang terdapat didalam tubuh. Akan tetapi, radikal bebas juga dapat mengalami peningkatan yang disebabkan oleh faktor stress, radiasi, asap rokok dan polusi lingkungan sehingga sistem pertahanan tubuh yang ada tidak memadai, sehingga tubuh memerlukan tambahan antioksidan dari luar yang dapat melindungi dari serangan radikal bebas. Kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas (kerusakan oksidatif) yang terjadi di dalam tubuh manusia pada dasarnya dapat diatasi dengan adanya antioksidan endogen yang terdapat didalam tubuh diantaranya enzim katalase, glutathion peroksidase, superoksida dismutase dan glutathion s-transferase. Akan tetapi, apabila jumlah radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh mengalami peningkatan, maka tentunya diperlukan tambahan antioksidan yang berasal dari luar tubuh (Sains & Teknologi, 2017).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menyumbangkan atau mendonorkan atom hidrogen atau proton kepada senyawa radikal bebas sehingga senyawa radikal tersebut menjadi lebih stabil. Dilihat dari sumber dimana antioksidan tersebut dapat diperoleh, antioksidan terbagi menjadi dua yakni antioksidan alami dan antioksidan buatan. Antioksidan alami dapat berasal dari buah-buahan dan tanaman, sedangkan antioksidan buatan dapat disintesis dari

suatu reaksi. Penggunaan antioksidan buatan dalam jangka waktu yang panjang dan jumlah yang berlebih dapat menyebabkan kerusakan hati. Oleh sebab itu, dewasa ini manusia cenderung memilih antioksidan dari alam seperti dari buah-buahan dan tanaman yang banyak terdapat di alam khususnya di Indonesia sendiri (Sains & Teknologi, 2017).

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Owolabi (2010), daun *Eupatorium odoratum* mengandung terpenoid dan mempunyai aktivitas antioksidan. Alkaloid, tanin, steroid, terpenoid, dan flavonoid merupakan kandungan yang terdapat dalam *Eupatorium odoratum* yang telah dilaporkan oleh Akinmoladun, et al (2007) mempunyai aktivitas antioksidan dan antibakteri. Menurut Owolabi et al (2010) beberapa senyawa kimia dari minyak *Chromolaena odorata* dilaporkan dapat memiliki sifat antibakteri dan antioksidan. Sedangkan senyawa yang berperan sebagai antioksidan adalah senyawa golongan fenolik yaitu *p*-coumaric, ferulic dan vanilic acids. Senyawa  $\alpha$ -pinene, dan germacrene D dalam *Eupatorium odoratum* bersifat antibakteri terhadap *Bacillus cereus* dan *Aspergillus niger*. Senyawa golongan terpenoid yang terdapat pada *Eupatorium odoratum* dapat berfungsi sebagai antioksidan. Sedangkan menurut penelitian Tran et al (2011) ekstrak daun *Eupatorium odoratum* memiliki kandungan flavonoid, phenolic, alkaloid, terpenoid, dan minyak esensial (Her, Parnanto, Setyowati, & Utami, 2013).

Tanaman botto-botto telah banyak digunakan sebagai tanaman obat yang telah terbukti memiliki aktivitas penyembuhan luka, antibakteri, antimalaria, antiinflamasi, antioksidan, analgesik dan antiimunosupresif, sitotoksik, antifungi,

efektif untuk kanker payudara. Kandungan kimia dari tanaman ini ialah flavonoid (yaitu, rhamnetin, tamarixetin, ombuin, kaempferid, isosakuranetin, odoratin, rhamnocitrin, laciniatin, acacetin, luteolin), fenolik (seperti p-cumaric, ferulic, asam vanilic), alkaloid, dan kaya akan esensial oil seperti  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, germacrene D,  $\beta$ -copaen-4-alpha-ol,  $\beta$ -caryophyllene, geigerene, pregeijerene, cadinene, camphor, limonene. (Akbar.2017).

Pengambilan sampel dilakukan pada jam 9.00 karena pada jam tersebut terjadi fotosintesis. Fotosintesis maksimal terjadi yaitu sekitar pukul 08.00 – 12.00, dimana pada saat fotosintesis maksimal terjadi pembentukan zat aktif (senyawa metabolit primer maupun sekunder). Sampel yang diambil berupa kulit batang kayu jawa, sampel yang diambil dari batang utama atau cabang, diambil tidak secara melingkar, dimaksudkan agar pohon yang digunakan mengambil sampel tetap mampu hidup. Sampel yang telah diperoleh disortasi dan dipisahkan dari kulit paling luar atau pengotor, setelah itu dibersihkan dengan cara dicuci dengan air mengalir. Setelah itu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Sampel kemudian dipotong-potong kecil untuk memudahkan dalam proses pengeringan selanjutnya dan hal ini dilakukan untuk memperbesar luas permukaan sampel sehingga kontak antara cairan penyari dan sampel lebih besar sehingga memudahkan penyarian komponen kimia yang terdapat dalam sampel. Dilanjutkan dengan pengeringan didalam lemari pengering. Tujuan pengeringan ini dimaksudkan untuk menghindari pertumbuhan mikroba sebagaimana telah diketahui bahwa medium berair dan lembab akan lebih mudah ditumbuhi mikroba atau jamur. Setelah sampel benar-benar kering, selanjutnya sampel akan

diekstraksi. Adapun tujuan dari proses ekstraksi ini adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam simplisia.

Pengolahan sampel kering yang telah diserbukkan diekstraksi dengan metode maserasi. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Prinsip dari metode maserasi adalah penyarian komponen zat aktif dari simplisia, dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan masuk ke rongga sel menembus dinding sel dan melarutkan zat aktif yang ada dalam sel. Karena perbedaan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel menyebabkan terjadinya difusi zat aktif yang ada dalam sel akan keluar sel. Demikian seterusnya sampai terjadi kesetimbangan. Dalam tahap ini, sebanyak 1800 gram kulit batang kayu jawa kering dimaserasi menggunakan pelarut metanol dan dibiarkan terendam selama  $\pm 3 \times 24$  jam, lalu dilakukan proses penyarian setelah  $\pm 3 \times 24$  jam menggunakan kertas saring dan corong yang telah disumbat kapas, dilakukan proses remaserasi sampel yang telah disaring, kemudian ditampung hasil maserasi.

Setelah diperoleh ekstrak metanol yang cair maka dipekatkan dengan bantuan alat *Rotary evaporator*. Prinsip pemekatan ekstrak pada alat ini yaitu dengan cara memisahkan ekstrak dengan cairan penyarinya berdasarkan titik didihnya, sehingga akan didapatkan ekstrak yang lebih pekat atau ekstrak yang lebih kental. Sedangkan ekstrak air yang cair dipekatkan menggunakan water bath hingga didapatkan ekstrak yang lebih pekat

Ekstraksi adalah proses penarikan senyawa dengan pelarut tertentu. Penggunaan pelarut metanol pada proses ekstraksi untuk menarik senyawa-

senyawa yang ada pada daun botto-botto. Pelarut metanol ini bersifat semipolar yang dapat melarutkan senyawa kimia yang memiliki kepolaran tinggi maupun kepolaran rendah dalam simplisia, sulit ditumbuhi jamur dan bakteri, mudah diuapkan serta relatif lebih murah. Hasil ekstraksi sampel daun botto-botto diperoleh sebanyak 275,4 g dari 5 kg simplisia.

Partisi merupakan tahap awal pemurniaan ekstrak. Partisi menggunakan dua pelarut yang tak bercampur yang ditambahkan ke dalam ekstrak. Partisi menggunakan dua pelarut tak bercampur yang kepolarannya meningkat. Partisi biasanya melalui dua tahap yaitu n-heksan untuk menghasilkan senyawa non polar di lapisan organik, air/diklorometan atau air/etil asetat untuk membuat fraksi agak polar di lapisan organik. Partisi dapat memberikan pemisahan yang sangat baik terutama untuk senyawa-senyawa yang memiliki kelarutan yang sangat berbeda (Heinrich, 2005). Hasil partisi n-heksan yang diperoleh dari ekstrak metanol daun botto-botto yaitu sebanyak 38 gram.

Fraksinasi adalah proses pemisahan komponen-komponen dalam ekstrak menjadi fraksi-fraksi. Proses fraksinasi dapat dilakukan melalui beberapa cara yaitu kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi kolom, kromatografi cair vakum, HPLC dan GC. Jumlah komponen suatu senyawa yang sudah difraksinasi dapat diketahui menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Proses metode ini menggunakan plat KLT yang sudah siap untuk digunakan. Terjadinya pemisahan komponen-komponen pada KLT dapat dijadikan sebagai panduan untuk mengetahui jumlah komponen senyawa yang terdapat pada bahan alam yang akan diisolasi. Selain itu, nilai  $R_f$  juga dapat dijadikan sebagai panduan

untuk memisahkan komponen kimia. Hasil analisis KLT inilah yang diterapkan pada proses fraksinasi dengan menggunakan kromatografi cair vakum.

Fraksinasi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa pada partisi larut etil asetat 3 gram dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan metanol. Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan n-heksan, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar, sedangkan metanol untuk menarik senyawa-senyawa polar. Dari proses ini dapat diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Sebagaimana diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar juga (Mutiasari, IR, 2012).

Ada berbagai macam metode yang sering digunakan dalam penentuan aktivitas antioksidan dan antiradikal. Metode penangkapan radikal dengan menggunakan suatu radikal buatan stabil DPPH (2,2-difenyl-2-pikrylhydrazil hidrat) merupakan metode yang hasilnya dapat dipercaya sehingga sering digunakan dalam jurnal-jurnal penelitian yang berkaitan dengan skrining aktivitas antioksidan (Sains & Teknologi, 2017).

DPPH digunakan karena merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu ruang. DPPH ini akan menerima elektron atau radikal hidrogen dan akan membentuk molekul diamagnetik yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH, baik secara transfer elektron atau hidrogen pada DPPH, akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH (Sains & Teknologi, 2017).

Identifikasi senyawa antioksidan dengan metode DPPH dilakukan dengan penyemprotan DPPH terhadap lempeng KLT yang telah dielusi menggunakan fraksi n- heksan sehingga didapatkan hasil positif dengan penampakan perubahan warna dari warnna ungu menjadi warna kuning pada beberapa fraksi, perubahan warna ungu menjadi kuning yang dapat mengindikasikan adanya aktivitas antioksidan.





## BAB V

### PENUTUP

#### ***A. Kesimpulan***

Berdasarkan hasil pengamatan dapat disimpulkan bahwa fraksi tingkat 1 heksan dari daun botto-botto (*Chromolaena odorata*) memiliki aktivitas antioksidan ada 6 gabungan fraksi yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna dari warna ungu menjadi warna kuning pada lempeng kromatografi lapis tipis yang di bandingkan dengan control positif ( beta karoten ). Sedangkan fraksi tingkat kedua semua gabungan fraksi memiliki aktivitas antioksidan

#### ***B. Saran***

Untuk penelitian selanjutnya, perlu dilakukan penelitian pengujian aktivitas antioksidan terhadap fraksi daun Botto-Botto (*Chromolaena odorata*) dengan menggunakan metode lain sehingga dapat dibandingkan hasil yang diperoleh dengan menggunakan metode DPPH dan perlu dilakukan pemurnian lebih lanjut ketahap isolasi senyawa aktif untuk mengetahui kandungan yang paling efektif sebagai antioksidan

## KEPUSTAKAAN

- Apriandi.A. (2011). *Aktifitas antioksidan dan komponen bioaktif keong ipong ipong*. Institut Pertanian. Bogor.
- Amatya,S. Tuladhar,S.M (2011). *In vitro antioxidant activity of extracts from Eupatorium odoratum L.* [Jurnal]. - [s.l.] : Res.J.Med.Plant ,79-84.
- Atindehou Ménonvè , (2013) dkk. *Isolation and Identification of Two Antibacterial Agents from Chromolaena odorata L. Active against Four Diarrheal Strains.* - France : University of Strasbourg, Strasbourg, France.
- Atun, S., 2014. *Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam*. Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur, 8(2), pp. 53-61.
- Ayensu E.S (1978) *Medicinal Plants of West Africa*.Algonac, Michigan, USA : Reference Publication Inc.
- Bhargava,D., Sanjay,K., Jagadish,N.S., Bicash,S. (2011), *Screening of anti-gonorrhoeal activity of some medicinal plants in Nepal* .203-212.
- Biller Andreas [et al.] (1993) *Pyrrolizidine alkaloids in chromolaena odorata. Chemical and chemoecological aspects*.Germany : Institut für Pharmazeutische Biologie der Technischen Universität, Mendelssohnstr, . 35. 615-619.
- Chakraborty Anup Kumar, Rambhade Sujit dan Patil Umesh k , (2011) *Chromolaena odorata (L.) : An Overview*. Journal of Pharmacy Research. - India : Department of Pharmaceutical chemistry.3 :. 573-576.
- Dat Nguyen Tien [et al.] (2009) *A Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-gamma Agonist and Other Constituents from Chromolaena odorata* [Jurnal]. - Korea : Korean Research Institute of Biosciences and Biotechnology, Vol. 75.803-807.
- Dirjen POM (1986) *Sediaan Galenik* . - Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.,
- Debidani Mishra (2010) *et Phytochemical investigation and evaluation of anthelmintic activity of extract from leaves of Eupatorium odoratum linn.* [Jurnal]. - Indian : J.Pharm. Educ. Res., 2010.369-374.

- Emeje C. Ezenyi & O. A. Salawu & R. Kulkarni & M. (2014) *Antiplasmodial Activity-Aided Isolation and Identification of Quercetin-4'-methyl ether in Chromolaena odorata Leaf Fraction with High Activity Against Chloroquine-Resistant Plasmodium falciparum* [Journal]. - Nigeria : Springer-Verlag Berlin Heidelberg,
- Fang YZ., Yang S., Wu G., 2002. *Aktifitas Penangkap Radikal Ekstrak Etanol 70% Biji Jengkol (Archidendron jiringa)*, *pharmacon*, Vol. 9, No.1, 33-40.
- Finnie Aitebiremen G, Omokhua, Lyndy J. McGaw, Jeffrey F (2015) *Chromolaena odorata (L.) R.M.King&H.Rob.(Asteraceae) in sub-Saharan Africa : A synthesis and review of its medicinal potential Journal of Ethnopharmacology* . - Afrika : Research Centre for Plant Growth and Development, University of KwaZulu-Natal Pietermaritzburg,
- Gill L.S .1992. *Ethnomedical Uses of Plants Nigeria*.Uniben Press . - Nigeria : Uniben Press,
- Goldberg, G. 2003. *Plants: Diet and Health*. Iwo State Press, Blackwell Publishing Company. 212 State Avenue, Ames.USA
- Halliwel, B. & J.M.C. Gutteridge. 1990. *Role of free radical and catalytic logam ions in humans disease : An overview*. Meth. Enzymol.
- Hang Hanh .2011 . *Anti-inflammatory Effect Of Fatty Acids Isolated From Chromolaena Odorata* . : Elsevier,760.
- Harbone JB (1973) *Phytochemical Methods*. - New York : Holdsted Press.
- Idu, M., Onyibe,H.I (2007) *Medicinal plants of Edostate*. - Nigeria : Res.J.Med.Plant,32-41.
- Isnindar, Wahyuono, S., & Setyowati, E. P. 2011. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa antioksidan daun kesemek (Diospyros kaki Thumb) dengan metode DPPH*. Majalah Obat Tradisional.
- Ivanisova, et al. 2013. *Antioxidant Activity of Selected Plant Product*. Journal of Microbiology, Biotechnology, and Food Science.
- Jasnje Farnidah HJ (2009) *Biological Activities And Chemical Constituents Of Chromolaena odorata (L.) King & Robinson*. Jurnal

- Julian Rodriguez. 2008. *Activity-Guided Separation of Chromolaena odorata Leaf Extract Reveals Fractions*
- Kouamé Prevost Bi-Koffi [et al.] *Phytochemicals Isolated from Leaves of Chromolaena odorata: Impact on Viability and Clonogenicity of Cancer Cell Lines* [Jurnal]. - France :
- Kumalaningsih, S. 2008. *Antioksidan, Sumber, dan Manfaatnya*.
- Langseth, L. Oxidants. 1995. *Antioxidants and Disease Prevention*. ILSI Europe, Belgium.
- Manli Z., Liu, P., Zhao, T. & Wang, Y. A (2015) New BIdihydroflavone Isolated From *Chromolaena odorata* .*Chemistry of Natural Compounds*.Vol. 15. - pp. 637-639
- Miller HE. F Rigelholt, L Marquar, A Prakash, M Kanter. 2000. *Antioxidant content of whole grain breakfast cereal, fruits, and vegetables*. Jurnal of American college of nutrition 19 (3)3128
- Muadzin, M. d., 2009. *Semua Penyakit ada Obatnya, Menyembuhkan Penyakit Ala Rasulullah*. Jakarta: Mutiara Medika.
- Mukhriani, 2014. *Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif*. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), pp. 361-367.
- Mutiasari, I., 2012. *Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Fraksi Aktif*. *Jurnal Fitokimia*.
- Mullika Traidej Chomnawang et al.2005. *Antimicrobial effects of Thai medicinal plants against acneinducing bacteria*. [Jurnal]. - [s.l.] : *Journal of Ethnopharmacology*, 330-333.
- Ni Kadek Fina Parwati, Mery Napitupulu dan Anang Wahid M. Diah .2014. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Binahong dengan menggunakan Spektrofotometri UV-VIS*- Universitas Todulako.Palu- Indonesia
- Ngono N.A.2006. *Anti-fungal activity of Chromolaena odorata (L.) King & Robinson (Asteraceae) of Cameroon*. *Chemotherapy* [Jurnal].103-106.

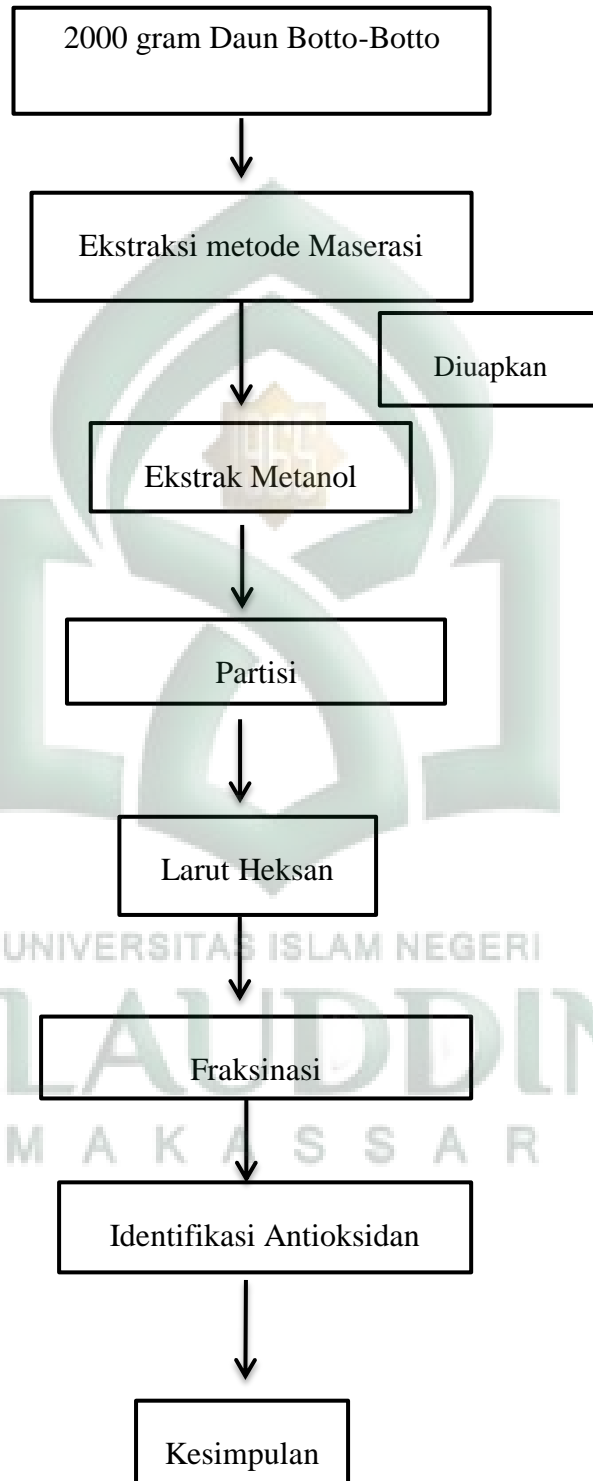
- Ngozi, Igbo M., Jude, Ikewuchi C. and Catherine,.2009. *Chemical Profile of Chromolaena odorata L. (King and Robinson) Leaves*. [Jurnal]. - Pakistan : *Journal of Nutrition*.
- Oludare Taiwo B et al .2000. *Anti-Inflammatory, Antipyretic And Antispasmodic Properties Of Chromolaena Odorata*. [Jurnal]: *Pharmaceutical biology*.367-370.
- Owoyele,V.B., Adediji,J.O., Soladoye,A.O 2005. *Anti-inflammatory activity of aqueous leaf extract of Chromolaena odorata* [Jurnal]. - [s.l.] : *Inflammo pharmacology*., 479-484
- Panagan, a.t. 2011. *Pengaruh Penambahan Tepung Wortel (Daucus carotta L) Terhadap Bilangan Peroksida dan Asam Lemak Bebas pada Minyak Goreng Curah*. *Jurnal Penelitian sains*..
- Phan, Toan Thang et al .2000. *Anti-oxidant effects of the extracts from the leaves of Chromolaena odorata on human dermal fibroblasts and epidermal keratinocytes against hydrogen peroxide and hypoxanthine–xanthine oxidase induced damage*, [Jurnal]. - : *J of the international society*, 319-327.
- Prawiradiputra Bambang R. Ki Rinyuh .2006. *(Chromolaena odorata (L.) R. M. King & H. Robinson): Gulma Padang Rumput Yang Merugikan* [Journal]. - Bogor : Balai Penelitian Ternak,.
- Reynertson, K.A. 2007. *Phytochemical Analysis of Bioactive Constituents from Edible Myrtaceae Fruit*. The City University of New York: New York.
- Shihab M. Quraish.2009. *Tafsir Al-Mishbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an* [Book]. - Jakarta : Lentera Hati, Vol. 3.
- Sudarmo Subiyakto.2014. *Mudah Membuat Peptisida Nabati* [Book]. - Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Suksamrarn A., Chotipong, A. & Suavansri ,2004. *T Antimycobacterial Activity and Cytotoxicity of Flavonoids from the Flowers of Chromolaena odorata* [Journal] // *Archibes of Pharmacal Research*.Vol. 27. - pp. 507-511
- Tjitrosoepomo Gembong. 2010. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)* [Journal]. - [s.l.] : Gajah Mada University, p. Yogyakarta.

Valko M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J., 2006.  
*Free Radicals and Antioxidant in Normal Physiological Functions and Human Disease*, The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 39 (44-84).



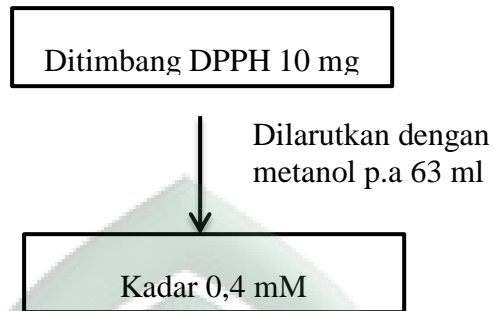
## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Alur Penelitian

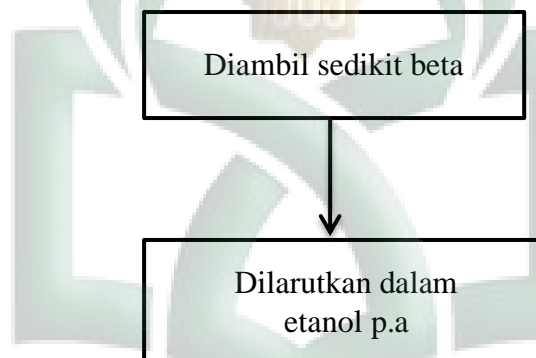


## Lampiran 2. Penyiapan Larutan

### a. Pembuatan larutan uji DPPH



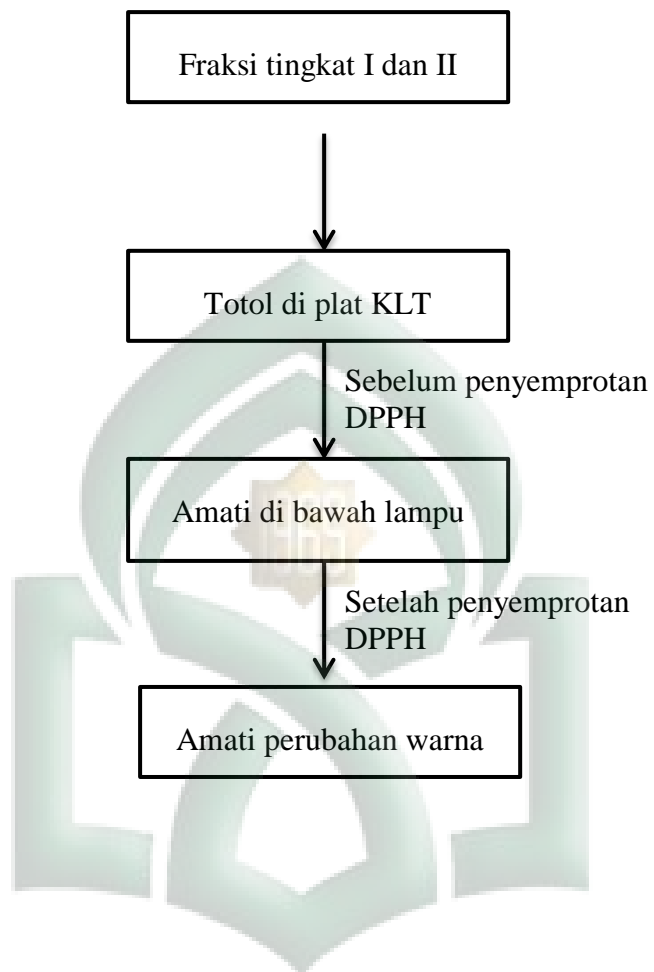
### b. Pembuatan larutan kontrol (Beta Karoten)



UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
**ALAUDDIN**  
M A K A S S A R



### Lampiran 3. Identifikasi Antioksidan fraksi heksan kulit batang kayu jawa



#### Lampiran 4. Perhitungan penyiapan larutan

##### 1. DPPH

$$\begin{aligned} 0,4 \text{ Mm} &= \frac{4 \times 10^{-4} \text{ mol}}{L} \\ &= \frac{4 \times 10^{-7} \text{ mol}}{\text{ml}} \\ 4 \times 10^{-7} \text{ mol} &= \frac{g}{BM} \\ 4 \times 10^{-7} \text{ mol} &= \frac{g}{394,32 \frac{g}{BM}} \\ \text{Massa} &= 4 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot (394,32 \text{ g/mol}) \\ \text{Massa/mL} &= 0,0001577 \text{ g} \\ \text{Massa/100 mL} &= 0.01577 \text{ g} \\ &= 15,77 \text{ mg} \end{aligned}$$

DPPH diambil sebanyak 15,77 mg dan dicukupkan volumenya hingga 100 ml menggunakan metanol p.a

## Lampiran 5. Gambar



**Gambar 1. Tumbuhan Botto-Botto (*Chromolaena odorata* (L.)**

Keterangan : Morfologi tumbuhan botto-botto



***Gambar 2. Ekstraksi***

Keterangan :

1. Ekstrak daun Botto-Botto (*Chromolaena odorata* (L.)



***Gambar 3. Ekstraksi***

Proses partisi ekstrak metanol daun botto-botto



***Gambar 4. Ekstraksi***

Hasil partisi heksan



**Gambar 5. Fraksinasi**

Keterangan :

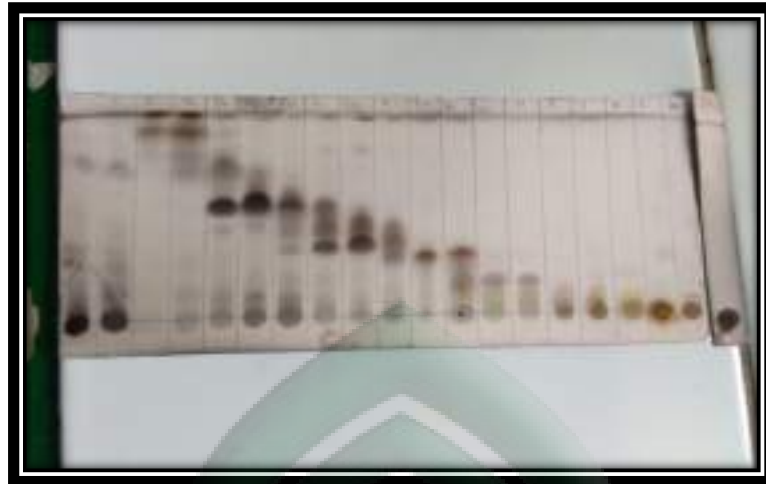
1. Proses fraksinasi
2. Hasil fraksinasi



**Gambar 6. Fraksinasi**

Keterangan :

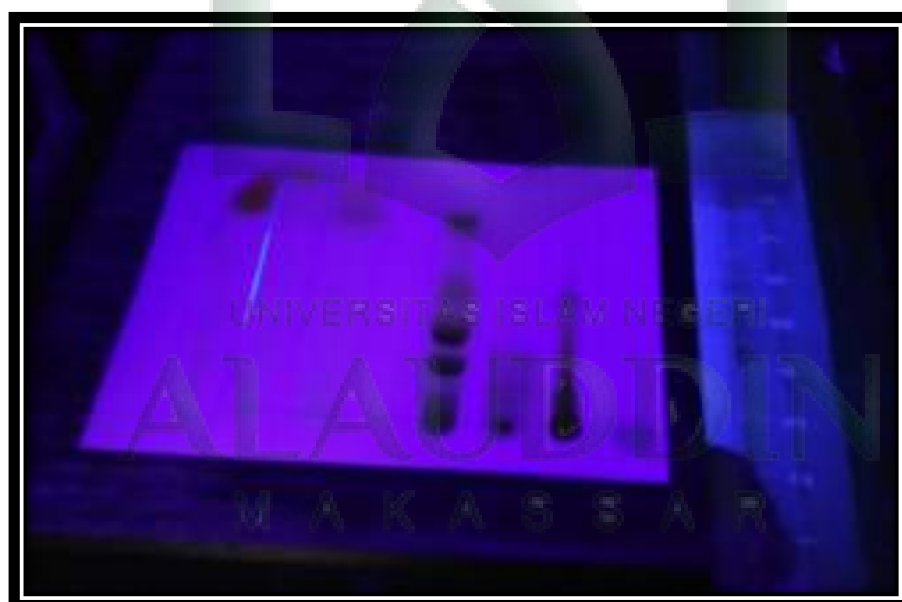
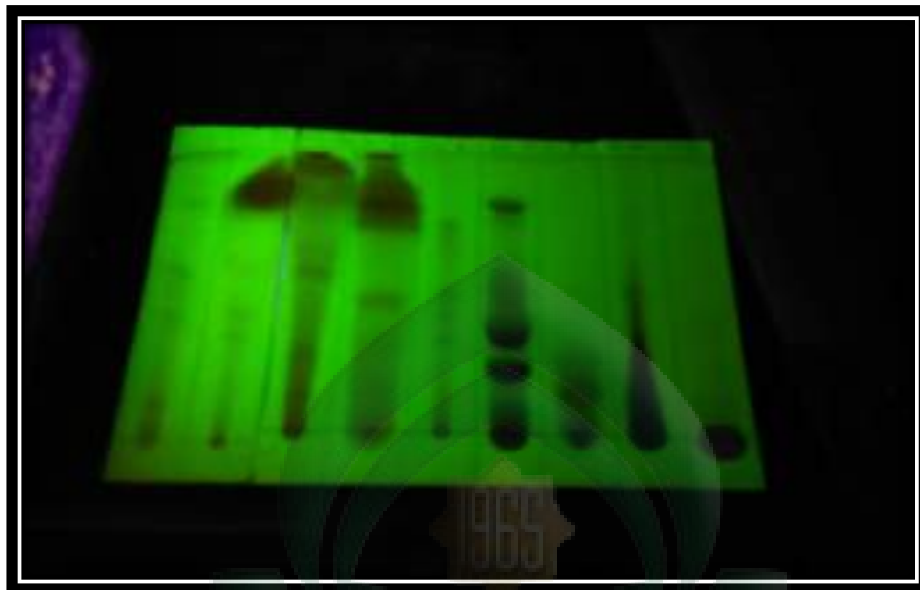
1. Hasil gabungan fraksinasi

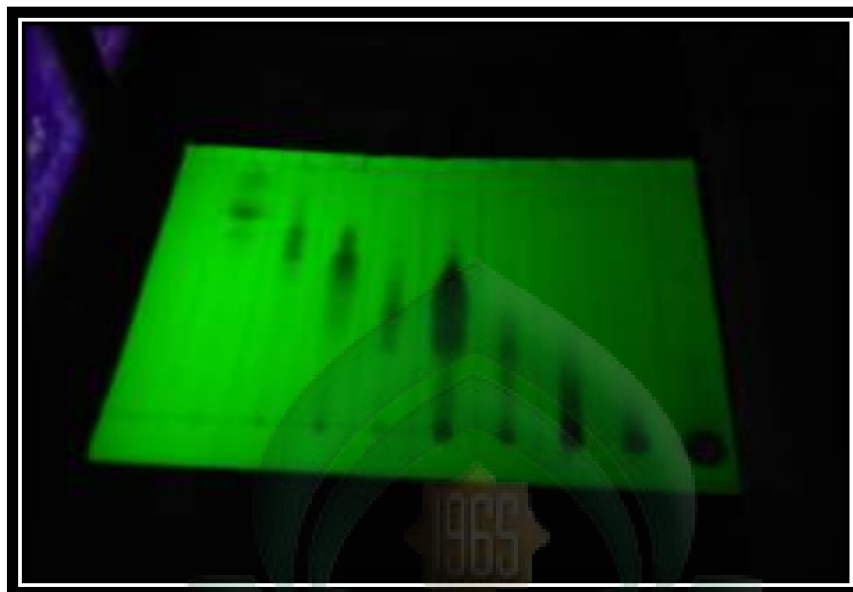


Gambar 7.

Keterangan :

1. Hasil gabungan fraksinasi yang di totol pada lempeng KLT
2. Hasil gabungan fraksinasi yang di totol pada lempeng KLT









**Gambar 8. Uji identifikasi Antioksidan dengan metode KLT**

1. KLT fraksi tingkat I UV 254 nm sebelum di semprot DPPH
2. KLT fraksi tingkat I UV 366 nm sebelum di semprot DPPH
3. KLT fraksi tingkat II UV 254 nm sebelum di semprot DPPH
4. KLT fraksi tingkat I UV 366 nm sebelum di semprot DPPH
5. KLT fraksi tingkat I setelah disemprot DPPH
6. KLT fraksi tingkat I setelah disemprot DPPH

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
**ALAUDDIN**  
 MAKASSAR

## RIWAYAT HIDUP



Asmirah Rezky Nur Octaviani, lahir pada 27 April 1997 di Banjar Masin. Anak ke-dua dari tiga bersaudara dan merupakan buah hati dari ayahanda Massakkirang dan ibunda Asniati.

Penulis mulai memasuki jenjang pendidikan dasar pada tahun 2002 di Sekolah Dasar Rumpia Kampung Atapange, Kabupaten Wajo dan tamat pada tahun

2008, kemudian pada tahun 2008 penulis melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 1 Majauleng Kabupaten Wajo dan tamat pada tahun 2011. Pada tahun 2011 penulis melanjutkan pendidikan ke SMA Negeri 1 Majauleng dan tamat pada tahun 2014. Melalui ujian pada Universitas tahun 2014, penulis diterima sebagai mahasiswa pada Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar (UIN Alauddin Makassar). Menjadi bagian keluarga farmasi angkatan 014 bernama GALENICA.

Penulis memiliki motto dalam hidupnya *the best preparation of tomorrow is do the best today..* WASSALAM